



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**HATAY İLİNDE RUMİNANTLARDA BAZI ARBOVİRAL
(AKABANE VİRUS, MAVIDİL VİRUS VE
SCHMALLEMBERG VİRUS)
ENFEKSİYONLARIN EPİDEMİYOLOJİSİNİN
ARAŞTIRILMASI VE OLASI VEKTÖRLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Fırat DOĞAN

**VİROLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Seval BİLGE DAĞALP**

**ANKARA
2018**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HATAY İLİNDE RUMİNANTLARDA BAZI ARBOVİRAL
(AKABANE VİRUS, MAVIDİL VİRUS VE
SCHMALLEMBERG VİRUS)
ENFEKSİYONLARIN EPİDEMİYOLOJİSİNİN
ARAŞTIRILMASI VE OLASI VEKTÖRLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Fırat DOĞAN

**VİROLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Seval BİLGE DAĞALP**

**II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Bilal DİK**

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün
15B0239007 proje numarası ve Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı (ÖYP)
Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.**

**ANKARA
2018**

Etik Beyan

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Hatay İlinde Ruminantlarda Bazı Arboviral (Akabane Virus, Mavidil Virus, ve Schmallerberg Virus) Enfeksiyonların Epidemiyolojisinin Araştırılması ve Olası Vektörlerinin Belirlenmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Fırat DOĞAN

Tarih: 26.01.2018

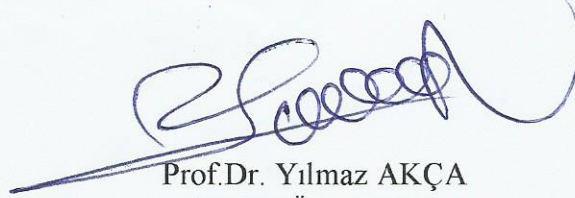
İmza:

KABUL VE ONAY

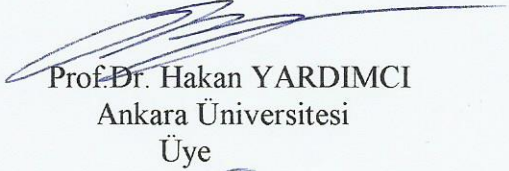
Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Viroloji Anabilim Dalında

Fırat DOĞAN tarafından hazırlanan “Hatay İlinde Ruminantlarda Bazı Arboviral (Akabane virus, Mavidil virus ve Schmallenberg virus) Enfeksiyonların Epidemiyolojisinin Araştırılması ve Olası Vektörlerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile kabul / red edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26.01.2018



Prof. Dr. Yılmaz AKÇA
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı



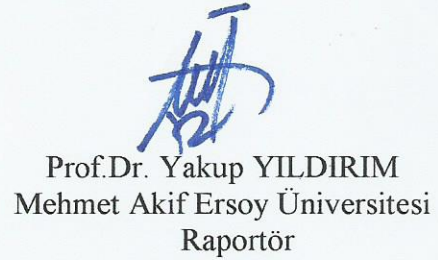
Prof. Dr. Hakan YARDIMCI
Ankara Üniversitesi
Üye



Prof. Dr. Mehmet ÇABALAR
Harran Üniversitesi
Üye



Prof. Dr. Seval BİLGE DAĞALP
Ankara Üniversitesi
Üye



Prof. Dr. Yakup YILDIRIM
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Raportör

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdür V.

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	x
Çizelgeler	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Bluetongue Virus (BTV; Mavidil Virus) Enfeksiyonu	2
1.1.1. Etiyoloji	2
1.1.2. BTV'nin Replikasyon Siklusu	5
1.1.3. Epidemiyoloji	6
1.1.3.1. Konakçı Aralığı	6
1.1.3.2. Bulaşma	7
1.1.3.3. Coğrafik Dağılım	10
1.1.4. Klinik ve Patogenez	13
1.1.5. Teşhis	14
1.1.6. Koruma ve Kontrol	16
1.2. Akabane Virus (AKAV) Enfeksiyonu	19
1.2.1. Etiyoloji	19
1.2.2. Orthobunyavirusların Replikasyon Siklusu	22
1.2.3. Epidemiyoloji	23
1.2.3.1. Konakçı Aralığı	23
1.2.3.2. Bulaşma	24
1.2.3.3. Coğrafik Dağılım	24
1.2.4. Klinik ve Patogenez	26
1.2.5. Teşhis	28
1.2.6. Koruma ve Kontrol	29
1.3. Schmallenberg Virus (SBV) Enfeksiyonu	30
1.3.1. Etiyoloji	31
1.3.2. Epidemiyoloji	33
1.3.2.1. Konakçı Aralığı	33
1.3.2.2. Bulaşma	34
1.3.2.3. Coğrafik Dağılım	35
1.3.3. Klinik ve Patogenez	36
1.3.4. Teşhis	38
1.3.5. Koruma ve Kontrol	39
1.4. <i>Culicoides</i> ler Hakkında Genel Bilgi	40
1.4.1. <i>Culicoides</i> lerin Yaşam Döngüleri	40
1.4.2. Vektör <i>Culicoides</i> lerin Dünya ve Ülkemizdeki Durumu	43
2. GEREÇ VE YÖNTEM	48
2.1. Gereç	48
2.1.1. Serolojik ve Virolojik Çalışmalarda Kullanılan Örnekler	48
2.1.2. PCR Tekniğinde Kontrol Olarak Kullanılan Viruslar	50

2.2.	Yöntem	51
2.2.1.	Serum Örneklerinin Hazırlanması	51
2.2.2.	Lökosit Örneklerinin Hazırlanması	51
2.2.3.	Doku ve Swap Örneklerinin Hazırlanması	51
2.2.4.	<i>Culicoides</i> Örneklerinin Hazırlanması	52
2.2.5.	ELISA	52
2.2.5.1.	BTV (VP7) Antikor ELISA	52
2.2.5.2.	SBV Antikor ELISA	53
2.2.5.3.	AKAV Antikor ELISA	53
2.2.6.	<i>Culicoideslerin</i> Tür ve Cinsiyet Tayini	54
2.2.7.	Viral RNA İzolasyonu	54
2.2.8.	Real Time RT-PCR ile BTV, SBV ve AKAV Viral Nükleik Asit Varlığının Araştırılması	55
2.2.9.	Konvansiyonel RT-PCR	56
2.2.10.	PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi	58
2.2.11.	Dizin Analizi	59
2.2.12.	Filogenetik Analiz	59
3.	BULGULAR	60
3.1.	ELISA Sonuçları	60
3.2.	<i>Culicoideslerin</i> Tür ve Cinsiyet Tayini	65
3.3.	Virolojik Kontrol Sonuçları	66
3.3.1.	Real Time RT-PCR Sonuçları	66
3.3.2.	Konvansiyonel RT-PCR Sonuçları	68
3.3.3.	Dizin Analizi ve Filogenetik Analiz Sonuçları	69
4.	TARTIŞMA	81
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	97
	ÖZET	99
	SUMMARY	100
	KAYNAKLAR	101
	EKLER	122
	EK-1 Etik Kurul Kararı	122
	ÖZGEÇMİŞ	123

ÖNSÖZ

Blutongue virus (BTV=Mavidil virus), Akabane virus (AKAV) ve son yıllarda özellikle Avrupa'da ortaya çıkan Schmallenberg virus (SBV) gibi enfeksiyonlar koyun, keçi ve sığırlarda birçok klinik belirtilerin sonucunda ağırlık kaybı, verim düşüklüğü ve abortlara neden olarak ruminant yetiştiriciliği için önemli ekonomik kayıpları beraberinde getirmektedir. İşletme bazında ekonomik kayıplara neden olmalarının yanı sıra, dünyada hayvan ve hayvansal ürünlerin ticaretine getirilen kısıtlamalar nedeni ile de bu enfeksiyonlar, ülke ekonomisi için önem taşımaktadır. Bu viruslar kan emen arthropod vektörlerle taşındığından arbovirus olarak adlandırılmaktadır. Arbovirus enfeksiyonları kısa sürede geniş alanları etkilemekte, insekt vektörler rüzgarın da etkisiyle taşıdıkları enfeksiyonları komşu illere ve hatta komşu ülkelere taşıyabilmektedirler.

Bu çalışma ile Hatay ilinde BTV, AKAV ve SBV enfeksiyonlarının prevalanslarının belirlenmesinin yanı sıra, söz konusu enfeksiyonların moleküler teknikler kullanılarak hızlı, duyarlı ve spesifik tanısının gerçekleştirilmesi; yapılacak filogenetik analizler ile farklı izolatların genetik ilişkileri, coğrafik orijinleri ve epidemiyolojilerinin izlenmesi ve Türkiye'de BTV, AKAV, SBV enfeksiyonlarını taşıdığı düşünülen *Culicoides* türlerinin/dağılımının ortaya konulması hedeflenmiştir.

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince, her konuda yardım ve desteğini aldığım, bilgisi deneyimleri ve görüşleriyle bana yol gösteren, özveri ve sabrını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Seval Bilge Dağalp ve II. danışman hocam Prof. Dr. Bilal Dik'e, lisansüstü eğitimim süresinde emeği geçen, destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yılmaz Akça ve Viroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Feray Alkan, Prof. Dr. Aykut Özkul, Prof. Dr. M. Taner Karaoğlu ve Prof. Dr. T. Çiğdem Oğuzoğlu ile tez izleme komitesi üyesi Prof. Dr. Hakan Yardımcı'ya; tez çalışmam süresince bana her konuda yardım eden Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Veysel Soydal Ataseven'e, tez örneklerinin

toplanmasında, yardımcı olan Veteriner Hekim Ali Hacıömeroğlu ve Veteriner Hekim Yakup Yıldırım'a teŖekkürlerimi sunarım.

Doktora tez çalışmam boyunca birlikte görev yaptığım ve tez çalışmam sırasında laboratuvar ortamında sonsuz desteklerini gördüğüm tüm araştırma görevlisi ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma teŖekkürü bir borç bilirim. Ayrıca hayatımın her aşamasında olduğu gibi tez çalışmam sırasında beni bütün kalpleriyle destekleyen eşim Aslı AKKAYA DOĞAN, biricik oğlum Mert Göktürk DOĞAN ve aileme minnet ve sonsuz teŖekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Müdürlüğü'nün 15B0239007 proje numarası ile ve Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı (ÖYP) Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AGID	Agar Jel İmmunodiffuzyon
AH	Arthrogripozis Hydranencephali
AKAV	Akabane Virus
bp	Baz çift, Base Pair
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
BT	Bluetongue
BTV	Bluetongue virus
CFT	Komplement Fikzasyon Testi
cm	Santimetre
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksi Nükleotit Tri Phosphate
EDTA	Etilene Diamine Tetra Asetik Asit
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ETY	Embriyolu Tavuk Yumurtası
g	Gram
kb	Kilo baz
kDa	Kilo Dalton
L	Large
M	Medium
MEGA	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
ml	Mililitre
mRNA	Messenger RNA
MUSCLE	Multiple Sequence Comparison by Log- Expectation
N	Nükleokapsit
NCBI	National Center Biotechnology Information
nm	Nanometre
NS	Non-Structural
OIE	World Organisation For Animal Health

nt	Nükleotit
PBS	Phosphate Buffer Saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
Pmol	Pikomol
RdRp	RNA bağımlı RNA polimeraz
RNA	Ribo Nükleik Asit
RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
S	Small
s	Saniye
SATV	Sathuperi Virus
SBV	Schmallenberg Virus
SHAV	Shamando Virus
VNT	Virus Nötralizasyon Testi
VP	Viral Protein
°C	Santigrad derece
>	Büyük
≥	Büyük Eşit
<	Küçük
≤	Küçük eşit
%	Yüzde
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	BTV'nin moleküler yapısı	5
Şekil 1.2.	BTV'nin replikasyon siklusu	6
Şekil 1.3.	BTV'nin yaz ve kış mevsiminde taşınması	8
Şekil 1.4.	BTV'nin ETY'ye ekimi ve ETY'de yaptığı etki	16
Şekil 1.5.	Orthobunyavirusların virion yapısı	21
Şekil 1.6.	Orthobunyavirusların şematik yapısı	21
Şekil 1.7.	Orthobunyavirusların replikasyon siklusu	22
Şekil 1.8.	AKAV enfeksiyonuna bağlı torticollis ve eklemlerde arthrogripozis olgusu	28
Şekil 1.9.	Schmallenberg şehrinin Almanya'daki yerleşimi	31
Şekil 1.10.	Schmallenberg virusun virion morfolojisi	33
Şekil 1.11.	Schmallenberg virusun genom yapısı	33
Şekil 1.12.	Bir kuzuda SBV'nin neden olduğu AH olgusu	37
Şekil 1.13.	<i>Culicoides</i> türlerinin yaşam döngüsü	42
Şekil 1.14.	Erişkin <i>Culicoides</i> morfolojisi	42
Şekil 1.15.	<i>Culicoides</i> lerin toplanmasında kullanılan ışık tuzakları	43
Şekil 2.1.	Hatay haritası üzerinde ışık tuzakları kurulan ilçeler	50
Şekil 3.1.	Materyal sağlanan hayvan türlerine göre BTV, SBV ve AKAV spesifik antikor varlığı oranları	62
Şekil 3.2.	Tüm hayvan türlerinde BTV, SBV, AKAV enfeksiyonlarının tekli ve çoklu pozitifliği	64
Şekil 3.3.	Hayvan türlerine göre tekli ve çoklu BTV, SBV, AKAV enfeksiyonlarının oranları	64
Şekil 3.4.	Toplam örneklerde aylara göre seropozitiflik oranları	65
Şekil 3.5.	BTV Real Time RT-PCR görüntüsü	66
Şekil 3.6.	SBV Real Time RT-PCR görüntüsü	67
Şekil 3.7.	AKAV Real Time RT-PCR görüntüsü	67
Şekil 3.8.	AKAV nested PCR ve SBV onestep-RT-PCR sonucu jel görüntüleri	69
Şekil 3.9.	BTV onestep-RT-PCR sonucu jel görüntüsü	69

Şekil 3.10. AKAV S segmenti yönünden yapılan filogenetik analiz	72
Şekil 3.11. AKAV genogrup II, genogrup Ib ve genogrup Ia arasındaki benzerlik oranları	73
Şekil 3.12. AKAV S segmenti yönünden yapılan dizin analizi sonucu genogruplar arasındaki nükleotid değişimi	74
Şekil 3.13. AKAV S segmentine yönelik yapılan dizin analizi sonucu genogrup II ve genogrup Ib arasındaki aminoasit değişimleri	76
Şekil 3.14. SBV S segmenti yönünden yapılan filogenetik analiz	77
Şekil 3.15. Çalışmada tespit edilen SBV'ler ile diğer SBV ve Orthobunyaviruslar arasındaki benzerlik oranları	78
Şekil 3.16. SBV S segmentine yönelik yapılan dizin analizi sonucu nükleotid benzerlikleri	79

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Transplasental olarak bulaşan BTV serotipleri ile ilgili çalışmalar	9
Çizelge 1.2.	Horizontal olarak bulaşan BTV serotipleri ile ilgili çalışmalar	9
Çizelge 1.3.	BTV serotiplerinin tespit edildiği ülkeler ve hayvan türleri	11
Çizelge 1.4.	Bunyavirales takımında yer alan virus aileleri	20
Çizelge 2.1.	Örneklenen ilçelere göre serolojik ve virolojik kontrol amacıyla alınan örnekler	49
Çizelge 2.2.	Real time RT-PCR’da kullanılan primer ve prob dizinleri	56
Çizelge 2.3.	Konvansiyonel RT-PCR’da kullanılan primer dizinleri	57
Çizelge 2.4.	OneStep RT-PCR birinci tur miks bileşenleri ve programı	58
Çizelge 2.5.	AKAV için nested –PCR miks bileşenleri ve programı	58
Çizelge 3.1.	Materyal sağlanan hayvan türleri ve yerleşim yerlerine göre BTV, SBV ve AKAV spesifik antikor varlığı sonuçları	61
Çizelge 3.2.	Hayvan türlerine göre tekli ve çoklu BTV, SBV ve AKAV enfeksiyonlarının oranları	63
Çizelge 3.3.	Toplanan <i>Culicoideslerin</i> tür ve sayıları	65
Çizelge 3.4.	Materyal sağlanan hayvan türleri ve yerleşim yerlerine göre Real Time PCR sonuçları	68
Çizelge 3.5.	AKAV yönünden dizin analizi yapılan örneklerle ait bilgiler	70
Çizelge 3.6.	SBV yönünden dizin analizi yapılan örneklerle ait bilgiler	70
Çizelge 3.7.	AKAV S segmenti kısmi dizin analizinde genogrup II genogrup Ib’lerin karşılaştırılmasında S segmenti üzerinde nükleotid değişimi	80

1. GİRİŞ

Son yıllarda küresel ısınmanın etkisi ile vektörlerin yaşam alanlarının genişlemesi ve buna bağlı olarak vektörle bulaşan enfeksiyonlar ön plana çıkmaktadır. Artropod vektörlerle taşınan viruslar Arbovirus olarak adlandırılmakta ve bu virusların taşınmasında sivrisinekler, keneler ile *Culicoides* cinsi sokucu sinekler gibi hematojen artropod vektörler önemli rol oynamaktadır. Dünyada bugüne kadar insan ve hayvanlarda 500'ün üzerinde arbovirus tespit edilmiştir (Hart, 2001). Bu virusların neden olduğu enfeksiyonlardan özellikle Mavidil (Blutongue; BT), Akabane (AKA) ve Schmallenberg (SB) virus enfeksiyonları meydana getirdikleri klinik bulgular sonucunda, ruminant yetiştiriciliği için önemli ekonomik kayıpları da beraberinde getirmektedirler. Söz konusu viruslar bazı *Culicoides* türleriyle nakledilmektedir. *Culicoides* cinsinde yer alan kan emici küçük sinekler birçok viral, bakteriyel ve paraziter hastalığın bulaştırılmasında vektör görevi görürler. *Culicoides* türlerinin hayvanlarda taşıdığı viruslar orbiviruslar [BT virus (BTV), African Horse Sickness (AHS), Epizootic Hemorrhagic Disease (EHD) gibi], rhabdoviruslar (Bovine Ephemeral Fever gibi) ve bunyaviruslar [AKA virus (AKAV), SB virus (SBV) gibi] olarak bildirilmektedir (Conraths ve ark., 2013 ve Mellor ve ark., 2000).

AKAV, BTV ve SBV enfeksiyonları, işletme bazında ekonomik kayıplara neden olmalarının yanı sıra, dünyada hayvan ve hayvansal ürünlerin ticaretine getirilen kısıtlamalar nedeniyle de, ülke ekonomisi için önem taşımaktadır. Söz konusu enfeksiyonların taşınmasında vektör olarak rol oynayan *Culicoidesler* özellikle yaz mevsiminde, kurak, nemli, bataklık ve sazlık bölgelerde yaygın olarak bulunmaktadır (Melhorn, 2007). Arbovirus enfeksiyonları kısa sürede geniş alanları etkilemekte; insekt vektörler rüzgarın da etkisiyle taşıdıkları enfeksiyonları komşu illere ve hatta komşu ülkelere taşıyabilmektedirler. Bu enfeksiyonların oluşumuna hem iklimsel, hem de antropojenik olarak adlandırılan insan faktörlü faaliyetlerin büyük etkisi bulunmaktadır.

Ülkemizde zaman zaman *Culicoides*lerin taşıdığı arboviral enfeksiyonlara bağlı salgınlar bildirilmekte; ayrıca farklı il/bölgelerde bu enfeksiyonların serolojik ve virolojik olarak araştırıldığı çalışmalar (Albayrak ve Özkan, 2010; Azkur ve ark., 2013; Gür, 2008; Karaoğlu ve ark., 2007; Özgünlük, 2003; Yıldırım, 2003; Yılmaz ve ark., 2012 ve Yılmaz ve ark., 2014) bulunmaktadır. Bu çalışmaların sonuçlarına göre söz konusu enfeksiyonların ülkemizde giderek yaygınlaştığı, özellikle enfeksiyonu taşıyan insekt vektörlerin türlerinin zaman içinde farklılıklar gösterdiği ve daha önce vektör oldukları bilinmeyen bazı türlerin de bulaşmada rol oynadıkları gözlenmektedir (Burgu ve ark., 1992; Dik ve ark., 2006; Dik ve ark., 2010 ve Yavru ve ark., 2009).

1.1. Bluetongue Virus (BTV; Mavidil Virus) Enfeksiyonu

Çiftlik hayvanlarının önemli bir enfeksiyonu olan BTV Amerika, Afrika, Güney Asya, Kuzey Avustralya ve özellikle Güney Avrupa'da yaygındır (Erasmus, 1990; Parsonson, 1992). BTV, *Culicoides* cinsi kan emen sinekler ile nakledilen, evcil ve bazı yabani ruminantların konjesyon, ödem ve hemoraji ile karakterize, özellikle dişi ve erkeklerin üreme organlarına yerleşerek döl veriminde azalma, abort ve konjenital anomaliler nedeniyle önemli ekonomik kayıplara neden olan bir enfeksiyondur (Menzies ve ark., 2008; Murphy ve ark., 1999 ve Waldvogel ve ark., 1992). Önemli ekonomik kayıplara neden olduğu için OIE tarafından önemli hastalıklar listesinde, ihbari mecburi bir hastalık olarak yer almaktadır (OIE, 2009).

1.1.1. Etiyoloji

BTV, Reoviridae ailesinin Sedoreovirinae alt ailesinde Orbivirus cinsinde Bluetongue virus grup içerisinde sınıflandırılmıştır (ICTV, 2017). Bu alt ailede Cardoreovirus – Mimoreovirus – Orbivirus – Phytoreovirus – Rotavirus – Seadornavirus genusları yer almaktadır. Virus çift iplikçikli, 10 segmentli, zarfsız bir RNA virusudur.

BTV'nin daha önceleri 24 serotipi olduğu belirtilmesine rağmen, 2008'lerin başlarında İsviçre'de keçilerde yeni bir virus tanımlanmış ve Toggenburg Orbivirus olarak adlandırılmıştır ve muhtemelen BTV-25 olabileceği belirtilmiştir (Chaignat ve ark; 2009 ve Hofmann ve ark; 2008). Arap ülkelerinde (Kuveyt) 2010'da koyun ve keçilerde BTV-26 tanımlanmıştır (Maan ve ark; 2011a). Fransa'da 2014 yılında keçilerde BTV-27, Orta Doğu'da BTV-28 ve Güney Afrika'da 2013 yılında Alpaka'da BTV-29 identifiye edilmiştir (Maan ve ark., 2016 ve Wright, 2014).

BTV genomunun segmentli olması reassortmentlere izin verebileceğinden konak hücrede aynı anda farklı serotip ve genotiplerin enfeksiyonu oluşabilmektedir. Reassortment olayı virulens ve serolojik karakterde değişimlere neden olarak viral çeşitliliğin oluşmasında rol oynamaktadır.

BTV virionu yaklaşık 68 -70 nm boyutundadır. Virion çift tabakalı bir kapsite sahiptir ve pH 8-9 arasında stabildir. Dış kapsit düzenli yayılmış viral protein (VP) 2 ve VP5 yapısal proteinlerinden meydana gelmiştir. Dış kapsitin altında kor adı verilen iç kapsit ve genom bulunur (Şekil 1.1). Kor partikülü 32 kapsomerlidir. Virion kor bölgesi, transkripsiyon ve viral RNA'ları paketlemek için gerekli birkaç enzimi içerir. Genom segmentleri kapsit içersinde paketlenmiştir (Anthony ve ark., 2007).

BTV genomu 4 adet büyük (VP2, VP3, VP5, VP7) ve 3 adet küçük (VP1, VP4, VP6) yapısal proteinlerden meydana gelmektedir. İç kapsit düzenli yayılmış VP1, VP3, VP4, VP6 ve VP7 yapısal proteinleri ile yapısal olmayan (nonstructural) NS2, NS3/NS3A ve NS4 olarak adlandırılan proteinlerden meydana gelmektedir (Anthony ve ark., 2007; Hofmann ve ark., 2008 ve OIE, 2009).

Dış kapsitte VP2 ve VP5 proteini bulunmaktadır. Segment 2 tarafından kodlanan VP2 proteini serotip spesifik antijendir ve serotip belirlenmesinde etkili olmaktadır. VP2 proteini çok değişkendir ve serotipler arasında aminoasit bakımından %22.4-73 arasında farklılık göstermektedir (Maan ve ark., 2015 ve Ratnier ve ark., 2011). Antiviral bağışıklığın oluşmasında rol oynayan VP2 proteininden subunit aşı çalışmalarında yararlanılmaktadır. VP2, ayrıca virulensin belirlenmesi ve

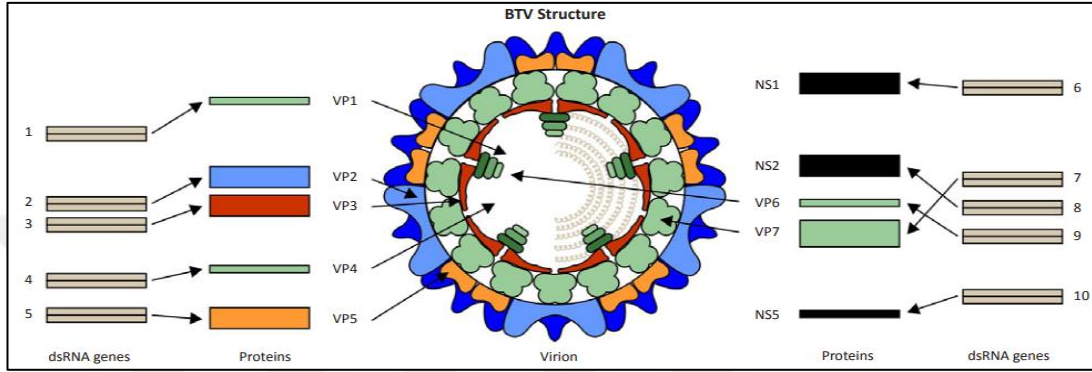
nötralizasyondan sorumlu tutulmaktadır. VP2'nin çıkartılması sonucunda virusun enfektivitesinde herhangi bir azalma olmamakta ancak virusun hücrelere tutunması zorlaşmaktadır. Aynı şekilde Segment 6 tarafından kodlanan ve virus serotipinin belirlenmesinde rol oynayan VP5 de nötralizasyondan sorumlu tutulmaktadır. VP5, VP2'ye göre birçok serotipte daha korunaklıdır (Mertens ve ark., 1984 ve Mertens ve ark., 1989).

Segment 2'ye göre farklı coğrafik bölgelerden elde edilen BTV izolatları farklılık göstermektedir; bu nedenle izolatlar eastern (e2) ve western (w2) olarak 2 büyük topotipe ayrılmışlardır. Eastern grup; Güney Doğu Asya, Hindistan, Çin, Avustralya izolatlarını, Western grup ise Afrika, Kuzey ve Güney Amerika izolatlarını içermektedir (Maan ve ark., 2010; Maan ve ark., 2011b ve Maan ve ark., 2016). Son yıllarda, virusun iyi korunmuş bölgelerinden biri olan Segment 10 (NS3/NS3A) (Ratinier ve ark., 2011) hedeflenerek de filogenetik analizler yapılmakta ve buna göre topotipler belirlenmektedir (Nikolakaki ve ark., 2005 ve Özkul ve ark., 2009). Özkul ve ark. (2009) yaptığı çalışmada, Türkiye'de 1998-2001 yılları arasında elde edilen izolatların çoğu Eastern grupta yer almıştır.

Segment 1 tarafından kodlanan VP1, Segment 4 tarafından kodlanan VP4 ve Segment 9 tarafından kodlanan VP6 proteinleri küçük yapıdadırlar ve korun altında yer almaktadırlar. Virusun enzimatik fonksiyonlarında rol oynarlar. Segment 9 tarafından ayrıca NS4 kodlanmaktadır. NS4 enfekte hücrelerin çekirdeğinde bulunur, viral replikasyon siklusunda rol oynadığı düşünülmektedir. Segment 3 tarafından kodlanan VP3 proteini de korun altında bulunur ve VP2, VP5 ve VP7 proteinleri gibi kapsomerin yapısının oluşmasında rol oynar (Firth, 2008).

VP7 segment 7 tarafından kodlanır ve virusun vektör hücrelere tutunmasında önemlidir. Dış yapıda bulunur ve polipeptid yapısındadır. Grup spesifik antikolar VP7 tarafından üretilmektedir. NS1, Segment 5 tarafından kodlanmaktadır. Bu protein enfekte hücre sitoplazmasında erken safhada oluşur. NS1, BTV'nin morfogenezinde ve patogenezinde rol oynar. Segment 8 tarafından kodlanan NS2, BT virusun replikasyonu boyunca sentezlenir. NS2 tek iplikçikli RNA bağlama kabiliyetine

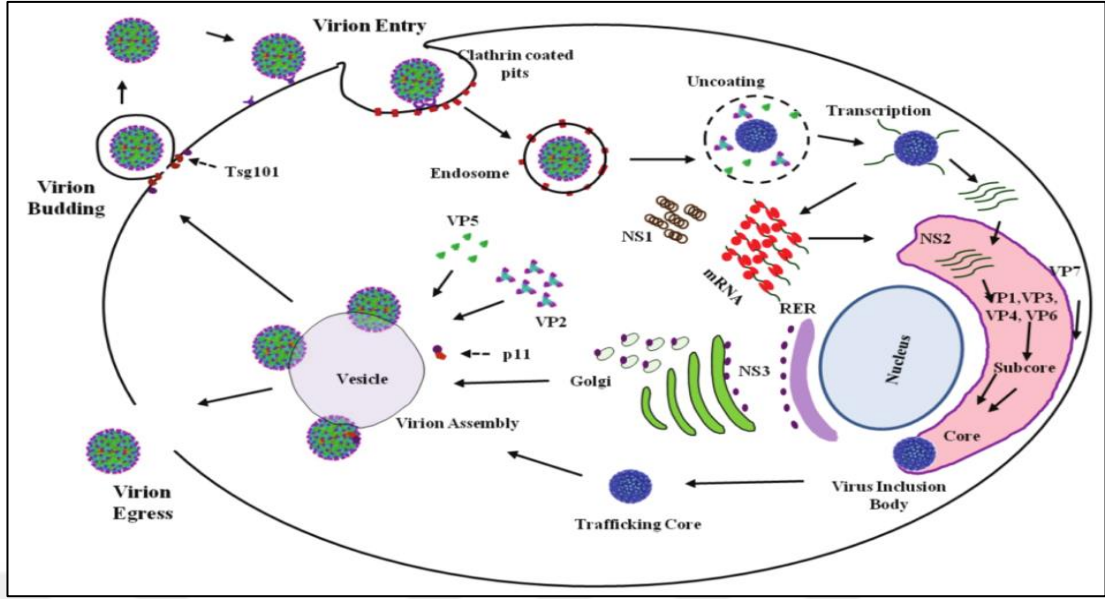
sahiptir; bu yüzden viral replikasyon aşamasında virusun bir araya gelmesinde rol oynar. NS3 ve NS3a Segment 10 tarafından birlikte kodlanırlar. Bu proteinler memeli hücrelerinden çok insekt hücrelerinde eksprese olur ve virulensin belirlenmesinde rol oynar; memeli ve insekt vektör hücrelerinden virionun serbest kalmasını sağlarlar (Brookes ve ark., 1993; Eaton ve ark., 1988; Hyatt ve ark., 1991; Ratiener ve ark., 2011 ve Tan ve ark., 2001).



Şekil 1.1. BTV'nin moleküler yapısı (Verwoerd, 2012).

1.1.2. BTV'nin Replikasyon Siklusu

Virionun hücre içine girişi, dış kapsit proteini olan VP2'nin sialik asit reseptörüne bağlanarak, kalatrin aracılı endositozisi ile olmaktadır. Asidik pH geçirgenliği arttırarak, virionun soyulmasına neden olur ve virion sitoplazma içerisinde serbest bırakılır. Virionun serbest bırakılmasını takiben kor bölgesi transkripsiyonel aktiviteye başlar. Translasyon için viral mRNA (Messenger RNA) oluşur ve NS proteinleri hücresel morfogenezise neden olur. NS1 tek iplikçikli RNA translasyonunu tetikler ve takiben sitosolde tubul formuna dönüşür. NS2 viral inklüzyon cisimciklerinin bir araya gelmesini sağlar ve bu inklüzyon cisimcikleri viral proteinleri konsantre hale getirerek, kor bölgesinin oluşması için yeni tek iplikçikli RNA sentezlenir. Kor bölgesinin oluşmasını takiben NS3 endositoz vezikülü üzerinde toplanır. Virion olgunlaşması VP2 ve VP5 ile ilişkili kor aracılığıyla oluşmaya başlar. Virion başlangıçta NS3 ile Tsg101' in etkileşimi ile hücre lizisi sonucu serbest bırakılır (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. BTM'nin replikasyon siklusu (Mohl ve Roy, 2014).

1.1.3. Epidemiyoloji

1.1.3.1. Konakçı Aralığı

BTM enfeksiyonuna tüm ruminantlar duyarlıdır ancak ciddi klinik belirtiler daha çok koyunlarda ve geyiklerde bildirilmektedir (Howerth ve Tyler, 1988; Johnson ve ark., 2006 ve Parsonson, 1990). Sığırlarda viremi süresi uzun sürdüğünden (100 gün) BTM'nin epidemiyolojisinde büyük önem taşımaktadır. Enfeksiyonun sığırlarda daha önceleri subklinik seyrettiği bilinirken, BTM-8 salgınında sığırlarda ciddi klinik belirtiler ortaya çıkmıştır (Darpel ve ark., 2007 ve Elbers ve ark., 2008).

BTM enfeksiyonu, evcil ruminantlar dışında geyik, antilop, alpaka, lama, yak, deve ve fillerde de bildirilmiştir (Erasmus, 1990; Henrich ve ark., 2007; Howerth ve ark., 2001; Mauroy ve ark., 2008; Meyer ve ark., 2009 ve Mushi ve ark., 1990). BTM kaynaklı abort olgularında aborte ruminant fötüslerini tüketen vaşak ve kedilerde de BTM tespiti yapılmıştır. (Jauniaux ve ark., 2008). Afrika'da çita, çakal, sırtlan ve aslanlarda (Alexander ve ark., 1994) ve Amerika'da BTM ile enfekte hayvanların

etlerini tüketen aylarda, panterlerde ve köpeklerde BTV antikoru tespit edilmiştir (Dunbar ve ark., 1998 ve Howerth ve ark., 1995).

1.1.3.2. Bulaşma

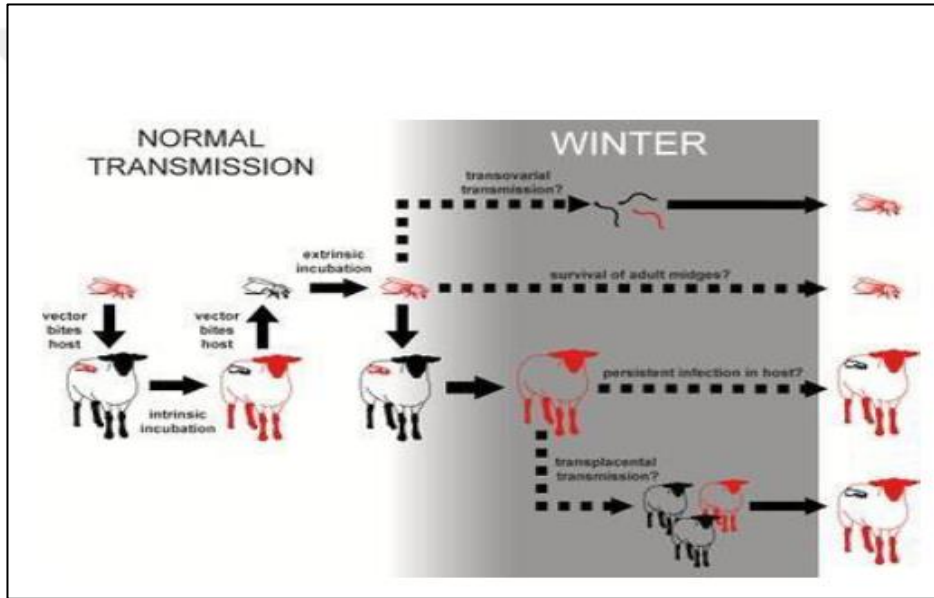
Virusun temel olarak bulaşması *Culicoides* türü kan emen sinekler aracılığıyla olmaktadır. *Culicoides*lerin dünyada 1400 kadar türü tanımlanmıştır ve bu türlerden 57'sinin Türkiye'de varlığı tespit edilmiştir (Dik, 1997). Bu türler içerisinde de 30 türün BTV enfeksiyonu için potansiyel vektör olabileceği belirtilmektedir. BTV enfeksiyonu, vektörlerin aktif olduğu yaz döneminde daha sık ortaya çıkmaktadır. Bu yüzden mevsime bağlı enfeksiyonlardan biri olarak tanımlanmaktadır. Yılın soğuk mevsimlerinde vektör aktivitesi azalmakta ve bu yüzden enfeksiyon oranlarında da düşüş olmaktadır. Overwintering olarak adlandırılan mekanizma ile virus sineklerde, kuş ve sürüngen gibi hayvanlarda kışı geçirmektedir (Mayo ve ark., 2012).

C.imicola tüm dünyada yaygın olarak bulunmaktadır ve duyarlı hayvanlara BTV'nin taşınmasında en etkin vektörlerden biri olarak düşünülmektedir. Güney Avrupa'da BTV salgınlarında *C.imicola* yaygın olarak belirlenen bir tür olmasına rağmen, Kuzey Avrupa'da henüz tespit edilmemiştir. Avrupa'da vektör olarak düşünülen bir kaç tür daha vardır; bunlar *C.obsoletus*, *C.pulicaris* ve *C.dewulfii* olarak sayılabilir. Bu türler Avrupa'da yaygın olarak bulunmaktadır ve Avrupa'da BTV'nin yanı sıra SBV'nin de taşınmasında rol oynamaktadır (Mellor, 1990; Mellor ve Wittman, 2002; Purse ve ark., 2008; Regge ve ark., 2012 ve Tatem ve ark., 2003).

Güney Afrika'da BTV için ana vektör olarak *C.imicola* ve *C.bolitinos* gösterilmektedir. Bu türler Afrika'da yaygın olarak bulunmaktadır. Paweska ve ark. (2002) deneysel olarak yaptıkları bir çalışmada *C.magnus*, *C.bedfordi*, *C.leucostictus*, *C.pycnostictus*, *C.gulbenkiani* ve *C.milneinin* de bu virusa duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Ancak söz konusu türler Afrika'da az sayıda bulunmaktadır. Venter ve ark. (2007) yaptıkları bir çalışmada canlı aşı ile aşılanmış hayvanlardan aşısız duyarlı hayvanlara *Culicoides*ler aracılığıyla virusun taşınabileceğini belirtmişlerdir. Bu

durum endemik olmayan ülkelerde kontrolsüz canlı aşı kullanımına dikkat edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Bazı serotipler insekt vektör olmadan da horizontal ve vertikal yolla bulaşabilmektedir (Maan ve ark., 2016). Özellikle canlı aşıya bağlı olarak anneden yavruya geçişlerin olduğu belirtilmektedir (Darpel ve ark., 2009). Transplasental geçiş vektör olmadığı zamanlarda virusun canlılığını koruyabilmesinde önemli bir mekanizma olarak değerlendirilmektedir (Şekil 1.3, Çizelge 1.1) (Maan ve ark., 2016).



Şekil 1.3. BTV' nin yaz ve kış mevsiminde taşınması (Wilson ve ark., 2008).

Ayrıca BTV'nin horizontal olarak bulaştığını belirten birçok çalışma bulunmaktadır (Çizelge 1.2). Menzies ve ark. (2008) yaptıkları bir çalışmada, sığırlarda BTV nin horizontal geçişinin BTV ile kontamine plasentanın yenilmesi ile olabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca deneysel olarak BTV ile enfekte kan içeren kolostrumun oral yolla buzağılara verilmesi ile BTV-8 enfeksiyonu oluşabileceği gösterilmiştir (Backx ve ark., 2009). Batten ve ark. (2013) BTV-16 ile deneysel enfekte edilen keçilerin nasal akıntılarında viral RNA'yı tespit etmişler ve virusun direkt temas ile de bulaşabileceğini bildirmişlerdir. BTV-1'in geyiklerde dövüşme ile kan yoluyla birbirlerine geçebileceği belirtilmiştir. Ayrıca, enfekte hayvanlarla bir

arada bulunan sağlıklı hayvanlara BTV'nin bulaşmasının, ortak kullanılan suluklara tükürük veya bir şekilde kanın bulaşması ile de olabileceği düşünülmektedir (Lopez-Olvera ve ark., 2010).

Çizelge 1.1. Transplasental olarak bulaşan BTV serotipleri ile ilgili çalışmalar (Van der Sluijs ve ark., 2014).

Serotip	Hayvan Türü	Çalışma Türü
BTV-2	Sığır, Koyun, Keçi	Saha Araştırması
BTV-4	Koyun	Deneysel
	Koyun	Deneysel
	Koyun	Deneysel
BTV-8	Sığır	Saha Araştırması
	Sığır	Saha Araştırması
	Sığır	Saha Araştırması
	Sığır	Saha Araştırması
	Sığır	Deneysel
	Koyun	Saha Araştırması
	Sığır	Saha Araştırması
	Koyun	Deneysel
	Sığır	Saha Araştırması
	Koyun	Deneysel
	Sığır	Deneysel
BTV-9	Sığır	Saha Araştırması
	Sığır, Koyun, Keçi	Saha Araştırması
BTV-10	Koyun	Saha Araştırması
	Koyun	Deneysel
	Sığır	Saha Araştırması
	Sığır	Saha Araştırması
BTV-11	Koyun	Deneysel
	Geyik	Deneysel
BTV-13	Sığır	Deneysel
BTV-16	Koyun	Deneysel
BTV-23	Koyun	Deneysel

Çizelge 1.2. Horizontal olarak bulaşan BTV serotipleri ile ilgili çalışmalar (Van der Sluijs ve ark., 2014).

Serotip	Hayvan Türü	Çalışma Türü	Taşıma yolu
BTV-1	Koyun	Deneysel	Direkt Temas/Oral
	Geyik	Deneysel	Oral/Yaralama
BTV-2	Koyun	Deneysel	Oral
BTV-8	Sığır	Saha Araştırması	Oral/(Plasenta)
	Sığır	Deneysel	Oral/ (Kolostrum)
	Koyun	Deneysel	Direkt Temas/Oral
BTV-11	Sığır	Saha Araştırması	Oral/ (Kolostrum)
BTV-26	Keçi	Deneysel	Direkt Temas
BTV-27	Koyun	Deneysel	Direkt Temas

1.1.3.3. Coğrafik Dağılım

BTV enfeksiyonu ilk defa 1905 yılında Güney Afrika'da bildirilmiştir. Yirminci yüzyılın başlarına kadar hastalık bilimsel çalışmalarda "Malarial Catarrhal Fever" olarak tanımlanmıştır (Mertens ve ark; 2007). Afrika'ya özgü bir hastalık olduğu düşünülen BTV enfeksiyonunun, 1943 yılında Kıbrıs'da görülen ve koyunlarda ekonomik kayıpla seyreden enfeksiyonunun etkeninin BTV-3 olarak tanımlanması sonrasında, Afrika dışındaki ülkelerde de varlığı belirlenmiştir (Gibbs, 1994). Sığırlarda ilk defa 1933 yılında varlığı saptanmış ve şap hastalığına benzediğinden dolayı pseudo-food and mouth disease olarak adlandırılmıştır. Daha sonra hastalık, dilde oluşan siyanozdan dolayı Mavidil olarak tanımlanmıştır. İspanya, Portekiz, Yunanistan gibi daha önceden virus tespiti yapılmamış Akdeniz ülkelerinde 1998'lerden sonra enfeksiyon görülmeye başlanmıştır; bunun nedeninin küresel ısınmadan dolayı vektörlerin coğrafi dağılımının değişmesi olarak değerlendirilmiştir.

Avrupa ülkelerinde 1998 yılından bu yana değişik salgınlardan BTV-1,-2,-4,-8,-9 ve -16 izole ve tanımlanmıştır (Baylis ve Mellor, 2001; Breard ve ark., 2004; Maan ve ark., 2009; Mellor ve ark., 2008; Puse ve ark., 2005 ve Sailleau ve ark., 2014). Hollanda'da 2006'dan sonra epidemiler görülmüş, ardından Belçika, Almanya ve Fransa'da BTV serotip 8 saptanmıştır. Bu serotip 2006 öncesinde Avrupa'da bildirilmemiştir. Bu durumu açıklayabilecek birçok görüş ortaya atılmıştır. Viremik safhadaki hayvanların ithalatı, enfekte semen ya da embriyo transferi, vektör tarafından ısırılan hayvanların nakli sonucu çıkabileceği gibi görüşler belirtilmiştir. Daha sonra Lüksemburg, Macaristan, Avusturya, İsviçre'de de 2008'de BTV-8'e bağlı salgınlar ortaya çıkmıştır. BTV-8 in Kuzeydoğu Avrupa'da sadece koyunlarda değil, sığırlarda da yüksek virulense sahip olduğu ve plasentayı geçebildiği belirtilmiştir (MacLachlan, 2010). Hollanda ve Almanya'da 2008 yılında BTV-6; Belçika'da BTV-11 tanımlanmış ve muhtemel sebebinin yasal olmayan yollarla Avrupa'ya getirilen aşılardan olduğu düşünülmüştür (De Clercq ve ark., 2009 ve Eschbaumer ve ark., 2010). Belçika'da 2006-2008'de çıkan BT salgınında koyunlarda %42, sığırlarda ise %18 oranında mortalite oluşmuştur (Webb ve Quay, 2008). Avrupa'da olduğu gibi 2000 yılından sonra Amerika, Avustralya ve İsrail'de de yeni BTV serotipleri tespit

edilmiştir. Amerika’ da 1999 öncesine kadar serotip 2, 10, 11, 13, 17 enzootik iken serotip 1, 3, 5, 6, 9, 12, 14, 19, 22, 24 ise 2000 yılından sonra bildirilmiştir. Avustralya’da 2007 ve 2008 yıllarında serotip 2 ve 7 tespit edilmiştir. İsrail’de de önceleri serotip 2, 4, 6, 10 ve 16 bildirimleri yapılırken, 2006 yılı sonrası serotip 8, 15 ve 24 tespit edilmektedir (MacLachlan, 2010).

Çizelge 1.3. BTV serotiplerinin tespit edildiği ülkeler ve hayvan türleri (Maan ve ark., 2016).

Serotip	İzole Edilen Tür	Köken Aldığı Ülke	Yıl
1	Koyun	Güney Afrika	1958
2	Koyun	Güney Afrika	1958
3	Koyun	Kıbrıs	1944
4	Koyun	Güney Afrika	1900
5	Koyun	Güney Afrika	1953
6	Koyun	Güney Afrika	1958
7	Koyun	Güney Afrika	1955
8	Koyun	Güney Afrika	1937
9	Koyun	Güney Afrika	1942
10	Koyun	Portekiz	1956
11	Koyun	Güney Afrika	1944
12	Sığır	Güney Afrika	1941
13	Bilinmiyor	Güney Afrika	1959
14	Bilinmiyor	Güney Afrika	1959
15	Sığır	Güney Afrika	1960
16	Koyun	Batı Pakistan	1959
17	Bilinmiyor	ABD	1979
18	Koyun	Güney Afrika	1976
19	Koyun	Güney Afrika	1976
20	Culicoides	Avustralya	1978
21	Sığır	Avustralya	1980
22	Culicoides	Güney Afrika	1992
23	Sığır	Avustralya	1987
24	Koyun	Güney Afrika	1992
25	Keçi	Toggenburg-İsviçre	2007
26	Koyun	Kuveyt	2010
27	Keçi	Fransa	2014
28	Bilinmiyor	Orta Doğu	2014
29	Alpaka	Güney Afrika	2013

Türkiye’de BTV enfeksiyonu ilk defa 1944 yılında Hatay ve çevresinde bildirilmiş ve sınır komşusu olan Suriye kaynaklı olabileceği düşünülmüştür (Anonim,

1980). Daha sonraki yıllarda uzun bir süre Türkiye’de varlığı bildirilmeyen BTV enfeksiyonu 1977 yılında Aydın ve çevresindeki illerde koyunlarda görülmüştür. Yapılan klinik gözlemler, patolojik bulgular ve laboratuvar çalışmaları sonucu enfeksiyonun etkeni BTV-4 olarak tanımlanmıştır. Bu vakadan sonra başka illerde de enfeksiyona rastlanmıştır (Burgu ve ark., 1992; Ertürk, 1994; Mellor ve ark., 1995; Urman ve ark., 1979 ve Yonguç ve Taylor, 1982). Trakya Bölgesinde 1999 yılında sahadan BTV izolasyonu gerçekleştirilmiş ve BTV-9 olarak tanımlanmıştır. Ayrıca Türkiye’de 2000 yılında tip-16 izolasyonu ve tanımlanması yapılmıştır (Mellor ve Witmann, 2002). BTV 1998 yılından itibaren Güney ve Batı Anadolu’da aktif olarak bulunmaktadır. Özgünlük (2003) Güney Doğu Anadolu Bölgesinde %52,58 oranında BTV’ye karşı seropozitiflik bulmuştur. Karaoğlu ve ark. (2007) Trakya bölgesinde yaptıkları çalışmada 557 sığır serumu örneklerinde BTV enfeksiyonunun seroprevalansını %94,8-97,5 olarak tespit etmişlerdir. Gür (2008) Güneydoğu Anadolu bölgesinde (Ceylanpınar/Şanlıurfa) örneklediği sığır serumlarında %88 oranında seropozitiflik bulmuştur. Yavru ve ark.(2009) İç ve İç Batı Anadolu bölgesinde yaptıkları bir çalışmada, koyun kan serumu örneklerinin % 24,02’sini (160/666) BTV antikor yönünden pozitif olarak değerlendirmişlerdir. Ayrıca lökosit örneklerinde RT-PCR ile %2,10 (14/666) oranında BTV nükleik asit varlığını tespit etmişlerdir. Albayrak ve Özcan (2010) Orta Karadeniz bölgesinde yaptıkları bir çalışmada sığırlarda BTV’nin seroprevalansını %11 (22/200) olarak bulmuşlardır. Gür ve ark. (2011) yaptıkları bir çalışmada Afyon bölgesinde BTV-4, BTV-9, BTV-16 antikorunu bulunduğunu belirtmişlerdir. Karaoğlu ve ark. (2012) Güneydoğu ve Kuzey Doğu Anadolu bölgesinde yaptıkları bir çalışmada BTV-9 seropozitifliğini yüksek oranda bulmuşlardır. Pestil (2014) yapmış olduğu çalışmada serolojik olarak koyunlarda %38,70 (465/1200) oranında BTV’ye karşı seropozitiflik tespit etmiştir; aynı çalışmada Real-time RT-PCR ile kontrol edilen kan örneklerinde herhangi bir pozitifliğe rastlanmamıştır. Kulaç ve ark. (2016) ise Rize yöresinde yaptıkları çalışmada sığırlarda BTV seroprevalansını %25 (100/400) olarak bulmuşlardır.

BTV enfeksiyonu üzerine yapılan tüm bu çalışmalardan enfeksiyonun ülkemizde yaygın olarak görüldüğü ve farklı serotiplerin zaman zaman salgınlara

neden olduğu anlaşılmaktadır. Ülkemizde en son salgın bildirimini, Ekim 2017'de Osmaniye'de koyunlarda BTV-4 tespiti ve Kasım 2017'de Aydın'da keçilerde BTV-16 tespiti olarak yapılmıştır (OIE, 2017).

1.1.4. Klinik ve Patogenez

Tüm ruminantlar BTV'ye duyarlıdır ancak ciddi klinik belirtiler özellikle koyunlarda görülmektedir. Daha önceleri subklinik enfekte oldukları bilinen sığırların, Avrupa'da BTV-8 epidemilerinde klinik belirtiler gösterdiği gözlenmiştir (Sperlova ve Zendulkova, 2011).

BTV'nin hemapoetik, retikuloendotelial dokulara ve özellikle endotelial hücrelere özel bir affinitesi vardır (Murphy ve ark., 1999 ve Erasmus, 1990). Hasta hayvanlarda sikluslu bir enfeksiyon tablosu oluşur. Koyunlarda doğal enfeksiyonda, BTV'nin primer replikasyon yeri lokal lenf nodülleridir. Etken viremiyi takiben diğer lenf nodüllerine gider ve lenforetiküler dokularda olduğu gibi küçük kapillar ve arterler ile venüllerin endotelium, periendotelium ve perisitlerinde hızlı bir şekilde replike olur. Replikasyon esnasında hücrelerde sitoplazmik vezikulyasyon, nükleer ve sitoplazmik hipertofi, piknoz ve karyoreksis oluşur. Bunun sonucunda endoteliumda nekroz gelişir (Sanhez-Cordon ve ark., 2010). Bu durum damar tıkanması, sıvı akışının durması ve eksudasyona yol açar. Böylece beslenemeyen yüzeydeki dokularda oluşan hipoksiye bağlı olarak özellikle en dıştaki epitel katmanında şiddetli lezyonlara neden olur. Vücudun çeşitli yerlerinde ödemler görülür. Pododermatitis ve tırnak düşmelerinin yanında iskelet kaslarında bozukluklar ortaya çıkar (Erasmus, 1990; Mertens, 1999 ve Murphy ve ark., 1999).

BTV kolaylıkla plasentaya geçer ve fütusta intrauterin enfeksiyonlara neden olur. Virus özellikle gebeliğin 5-6. haftalarında fötüs için tehlike oluşturur. Gebeliğin erken dönemlerinde enfekte sığırlarda embriyonik ölüm ve resorbsiyon görülebilir. Daha sonraki dönemlerde abort ya da malforme ve zayıf buzağı doğumu görülür. Gebeliğin 70-130. gününde enfekte olan fütusta ciddi merkezi sinir sistemi

malformasyonları oluşur (Menzies ve ark., 2008 ve Waldvogel ve ark., 1992). Uterus enfeksiyonları sırasında hydrancephali, nekrozlar, beyincik hypoplazileri, ekstremitelerde bükülmeler ve mandibula küçülmeleri ile karakterize fötopatiler meydana gelir. Patolojik-anatomik olarak baş mukozalarında eritemler, ödem ve siyanoz oluşur. Mukoza lezyonlarına çok sık rastlanır. Bunlar sıklıkla sekonder bakteriyel etkenlerle komplike olabilir. Retikulum ve rumende peteşiler, rumenin iç yapraklarında erozyonlar, abomasum mukozasında yaygın hematomlar, kalınlaşma veya sayısız hemorajiler, nadiren ülserleşmeler görülür. Bağırsaklarda az veya çok enteritis oluşur. Dalak büyümüştür, böbreklerde ve karaciğerde hematomlar görülebilir. Perikardiyal kesede sıvı, sol ventrikülde subendokardial hemorajiler, pulmonal arterin çıkış yerinde patolojik lezyonlar bulunmaktadır. En önemli lezyonlardan birisi de sol ventrikülün papillar kasında oluşan nekrozdur. Lenf yumruları az çok hiperemik ödemli ve şişkindir. İskelet kasında toplu iğne başı büyüklüğünde hemorajiler ve soluk bölgeler düzensiz olarak her tarafa yayılmıştır (Darpel ve ark., 2007; MacLachlan ve ark., 2009 ve Mauroy ve ark., 2008).

1.1.5. Teşhis

BTV enfeksiyonunun erken ve hızlı tanısı önemlidir. Enfeksiyonun erken tanısının yapılması durumunda, enfekte hayvanların sürüden uzaklaştırılması ile duyarlı diğer hayvanlara bulaş engellenebilir. BTV enfeksiyonunun teşhisi için birçok yöntem bulunmaktadır. Teşhis temel olarak klinik belirtilere, post-mortem bulgulara ve laboratuvar tespitine göre yapılmaktadır.

Laboratuvarda virus tespiti için alınması gereken materyaller; aborte fötusa ait dalak, lenf nodülleri, kemik iliği, akciğer, karaciğer ve beyin; canlı-enfekte hayvanlardan ise EDTA'lı kan ve serum örnekleri olmalıdır (Tweedle ve Mellor, 2002). BTV'nin -20°C'de stabilitesi bozulduğundan, dondur-çöz işleminden olumsuz yönde etkilenmektedir. Ancak 4°C'de birkaç ay enfektivitesini kaybetmeden muhafaza edilebilmektedir. Virusun daha uzun süreli saklanması gerektiği durumlarda ise, laktöz

pepton ya da %10 Dimethyl Sulfoxide (DMSO) eklenerek -70°C'de tutulmalıdır (OIE, 2014).

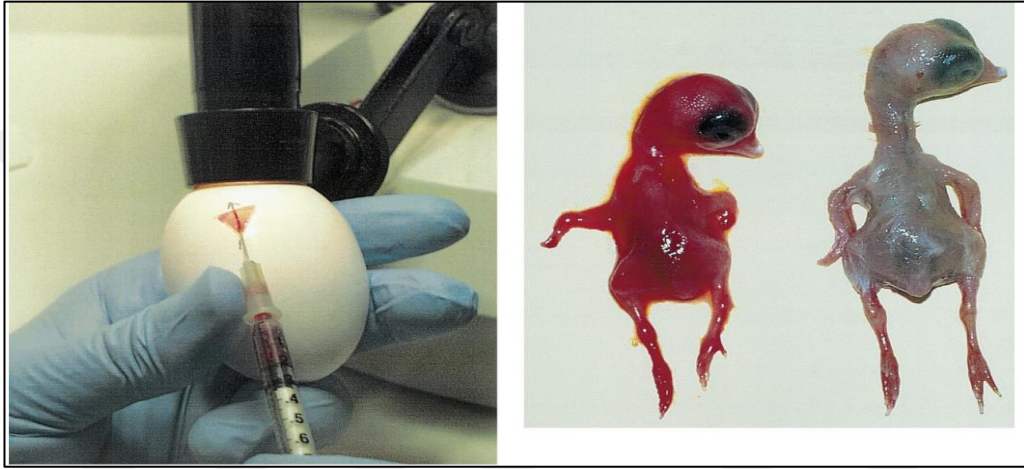
BTV ilk başlarda Agar jel immunodifüzyon (AGID) gibi serolojik testlerle ayırt edilmiştir. Moleküler tekniklerin gelişmesi ile birlikte hastalıkların teşhisi ve ayrımı daha hızlı yapılabilmektedir.

Viral nükleik asit tespitine yönelik Real time RT-PCR ve konvansiyonel RT-PCR teknikleri kullanılmaktadır. PCR tekniği hem hastalığın tespiti, hem de serotip belirlemede önemli bir yöntemdir (Leblanc ve ark., 2010; Vanbinst ve ark., 2010 ve Wilson ve ark., 2008). Konvansiyonel RT-PCR ile BTV'nin tespitinde VP1, VP3, VP7, NS1, NS2 ve NS3 bölgeleri gibi korunaklı gen bölgeleri hedeflenmektedir. Real-Time RT-PCR için ise VP1, NS1, NS2, VP6 ve NS3 gen bölgeleri hedef seçilmektedir. Serotip tayini için Segment 2'ye yönelik olarak yapılan moleküler testler duyarlı ve spesifiktir (Antony ve ark., 2007; Maan ve ark., 2015; Shav ve ark., 2007 ve Toussaint ve ark., 2007). Viral antijenin belirlenmesi için Floresan antikor (FAT) ve ELISA teknikleri de kullanılmaktadır (OIE, 2000).

Antikor tespiti için, serogrup-spesifik antikor ELISA kiti, AGID ve Virus nötralizasyon testinden (VNT) yararlanılmaktadır. VNT duyarlı ve spesifiktir, bu nedenle de BTV serotipleri için Gold standart test olarak değerlendirilmektedir. Ancak zaman alıcı bir yöntem olması dezavantajdır. Ayrıca Immun Floresan Testi (IFT), komplement fikzasyon testi (CFT), hemaglutinasyon inhibisyon (HI), immunperoksidaz (IP) testleri de tanıda kullanılabilirse de, günümüzde rutin tanıda çok fazla yararlanılmamaktadır (Antony ve ark., 2007; Pathak ve ark., 2008 ve OIE, 2000).

Virus izolasyonu BTV için önemlidir ancak bu yöntem pahalı ve zaman alıcı olması nedeniyle, hızlı tekniklerin kullanılması daha ön plandadır. Virus izolasyonunda hücre kültürleri ve ETY kullanılmaktadır (Şekil 1.4). Sahadan toplanan örneklerde virus konsantrasyonunun düşük olmasından dolayı, ETY'nin hücre kültürlerine göre daha duyarlı olduğu düşünülmektedir (Wechsler ve ark., 1989). Bu

yüzden virus izolasyonu için öncelikle virusun ETY'ye ekilmesi gerekmektedir. Bunun için 9-12 günlük embriyolu tavuk yumurtaları kullanılmaktadır. ETY'ye ekim intravenöz veya amniyon kesesine yapılmaktadır. ETY de bir iki pasaj yapıldıktan sonra hücre kültürlerine ekim yapılmaktadır (Clavijo ve ark., 2000). Hücre kültürlerine ekim için BHK-21, Vero, CPAE (Sığır Pulmoner Arter Endotelial) hücre hattı veya KC (C.sonerensis) ve C6/36 (A.albopictus) hücre hatları kullanılmaktadır (Maan ve ark., 2016; Mecham, 2006 ve Wechsler, 1988).



Şekil 1.4. BTV'nin ETY'ye ekimi ve ETY'de yaptığı etki (Clavijo ve ark., 2000).

1.1.6. Koruma ve Kontrol

BTV'nin geniş çapta küresel ekonomik etkisi vardır. BTV-8 salgınında 2007 yılında İngiltere'de 130 milyon dolar, Fransa'da yaklaşık 1,4 milyar dolar ve Hollanda'da yaklaşık 85 milyon dolar ekonomik kayıp bildirilmektedir. Kayıpların hesaplanması direkt hayvan kayıpları, aşılama kayıpları ve hayvan ticaretine getirilen kısıtlamalar dikkate alınarak yapılmaktadır. Ayrıca embriyo transferine de sınırlama getirilmiştir (Wright, 2014).

Anneden yavruya geçen maternal antikolar yenidoğanları 6 aya kadar koruyabilmektedir. Doğal enfeksiyon ve aşılama sonrasında ise oluşan immün yanıtın

6-18 ay yeni enfeksiyonlara karşı koruyucu etkisi bulunmaktadır (Osburn ve ark., 1992).

BTV'nin çok sayıda serotipinin olması ve duyarlı hayvan türlerinin sayısının fazla olması nedeniyle kontrolü zor olmaktadır. Korunmada en etkili yöntem vektör kontrolü, hayvan hareketlerinin kısıtlanması, enfekte hayvanların imhası ve aşılama ile gerçekleştirilebilmektedir. Vektör kontrolü pratikte çok zor olmaktadır ancak insekt kovucularla mücadele edilebilmektedir. Ayrıca mümkün olduğu kadar vektörle duyarlı hayvanların temasının engellenmesi mücadelede önemlidir (Chand ve ark., 2015).

Koyunlarda profilaktik immunizasyon BTV enfeksiyonuna karşı en pratik ve etkili kontrol tedbiridir. BTV'ye karşı aşılama kampanyalarının amacı, koyun ve sığırları klinik hastalığa karşı korumak, bir bölgede BTV'nin eradikasyonu, endemik BTV durumunun önlenmesi, sınırlandırılmış bölgelerin dışında ve bu bölgelerden hayvanların transportuyla korunması hedeflerini içerir. Uzun yıllardır BTV enfeksiyonuna karşı aşılamada attenüe canlı aşilar kullanılmaktadır. Attenüe canlı aşilar monovalan veya polivalan olarak hazırlanmaktadır. Canlı aşilar İspanya, İtalya, Fransa ve Portekiz gibi ülkelerde dönemsel olarak 2000 yılından bu yana BTV-2, 4, 9, 16'ya karşı kullanılmaktadır. Serolojik olarak bu aşiların etkinliği araştırıldığında, %80 nin üzerinde nötralizan antikorların oluştuğu tespit edilmiştir (MacLachlan ve ark., 2009; Savini ve ark., 2008 ve Savini ve ark., 2009). Bu aşiların tek dozda uzun süreli bağışıklık sağlaması, adjuvant kullanımına gerek duymaması gibi avantajları olmasına rağmen, aşılamadan sonra aşı virusuna bağlı vireminin meydana gelmesi, gebe hayvanlarda abortlara neden olabilmesi, aşılanan hayvanlarda eş zamanlı olarak saha virusu ile aşı virusunun genetik reassortmentleri sonucu yeni serotip/genotiplerin ortaya çıkma olasılığından dolayı da risk teşkil etmektedir. Ayrıca bu aşiların vektör aktivitesine çok yakın bir zamanda yapılması durumunda, bu hastalığı taşıdığı düşünülen vektörlerde biyolojik siklus esnasında virulens artışları oluşabilmektedir. Kuzey Avrupa'da 2008-2009 yılında tespit edilen BTV-6 ve BTV-11 serotiplerine bağlı salgınların da, Güney Afrika'da geliştirilmiş attenue canlı aşı suşlarından kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (Maan ve ark., 2010 ve Promed, 2009).

Bu olumsuzluklarından dolayı BTV enfeksiyonundan korunmada yeni nesil rekombinant vektör aşılar ve inaktif polivalan aşılar geliştirilmektedir (Batten ve ark., 2008; Modumo ve Venter, 2012 ve Monaco ve ark., 2006).

BTV' ye karşı inaktif aşı kullanımı 2005 yılında Fransa'da koyunlara BTV-2 ile hazırlanan aşı ile yapılmıştır. 2005-2006 yıllarında monovalan olarak hazırlanan BTV-4 ve bivalan olarak hazırlanan BTV-2, 4 Fransa, İspanya, Portekiz ve İtalya'da kullanılmıştır (Rodriquez-Sanchez ve ark., 2008). Daha sonraları BTV-1, 9 ve son yıllarda ise BTV-8 kullanılmaktadır (Wilson ve Mellor, 2009). İnaktif aşuların kullanılmasıyla canlı aşılardan kaynaklı riskler azaltılmıştır (Roy ve ark., 2009). İnaktif aşuların etkili bir koruma sağlayabilmesi için adjuvan kullanılması ve iki defa uygulanması gerekmektedir. İnaktif aşular güvenli kullanılabilir olsa da, immunitenin kısa süreli oluşu ve serotip spesifik olmaları nedeniyle her serotip için ayrı hazırlanma zorunluluğu gibi dezavantajlara sahiptirler (Rogan ve Babiuk, 2005).

Son yıllarda VP2 ve VP5 gibi yapısal proteinler kullanılarak rekombinant vektör aşular denenmektedir. Bu proteinler sentetik olarak üretilmekte ve virus benzeri partikül (VLP) olarak değerlendirilmektedir. Bunlar viral nükleik asit içermediğinden enfeksiyöz değildirler. VLP'ler yapısal olmayan (NSP) proteinler içermediğinden aşılı ve aşısız hayvanların ayırımı (DIVA) mümkün olabilmektedir. Bu rekombinant aşuların ucuz olması, DIVA özelliğinin var olması, çoklu serotipleri içermesi ve tek doz kullanımda uzun süreli koruma sağlamasından dolayı tercih edilmektedir (Boone ve ark., 2007). Rekombinant vektör aşı geliştirilmesinde capripox, canarypox, Bovine Herpes Virus 4, Vaccinia virus vektör olarak kullanılabilir (Boone ve ark., 2007 ve Franceschi ve ark., 2011). Canarypox virus vektörü kullanılarak sentetik VP2 ve VP5 kullanılarak yapılan aşılama sonrası koyunlarda yüksek düzeyde antikor oluşmuştur. Yine VP2, VP5, NS1 ve NS3 kodlayan replikatif canarypox virus vektör aşuları koyunlarda kullanılmış ve yeteri düzeyde antikor oluştuğu tespit edilmiştir (Perrin ve ark., 2007). Son zamanlarda virus üzerinde replikasyonda önemli rolleri olan bir veya daha fazla genin çıkartılmasıyla delesyon mutant aşular geliştirilmektedir. Bu aşular ile aşılı ve doğal enfekte hayvanların ayırımı yapılabilmektedir (Feenstra ve ark., 2014).

Enfekte sığırların kanlarında etken 100 gün persiste kalabildiğinden dolayı sığırlar bu enfeksiyonda rezervuar olarak rol oynarlar. Bu hayvanlarda tespit edilebilecek olan serotipe spesifik aşılarda üretilerek aşılama sezonunda bu aşılarda kullanılması, korunmada önemli olabilmektedir; bu hayvanlar sentinel hayvan olarak BTV için önemli bir erken uyarı sistemini sağlamaktadır (Mayo ve ark., 2012).

1.2. Akabane Virus (AKAV) Enfeksiyonu

Akabane (AKA) enfeksiyonu enzootik bovine arthrogriposis hydranencephali (AH) olarak da bilinmektedir. AKAV sığır, koyun ve keçileri enfekte etmektedir. Etkilenen hayvanlarda abort, zayıf doğum, erken doğum ve AH sendromu gibi konjenital anomaliler görülmektedir. Etken Japonya, İsrail, Avustralya, Asya, Türkiye, Kore ve Tayvan'da salgınlara neden olmuştur. AKAV Orta Doğu'da ruminant populasyonunda endemik olarak değerlendirilmektedir. AKAV enfeksiyonu da vektörlerle bulaşan ve mevsime bağlı olarak görülen hastalıklardan biridir (Taylor ve Mellor, 1994).

1.2.1. Etiyoloji

AKAV ICTV'nin (2017) belirlediği son taksonomiye göre Bunyavirales takımında, Peribunyaviridae familyasında, Orthobunyavirus genusunda, Akabane orthobunyavirus olarak adlandırılmaktadır. Bunyavirales takımı temel olarak 9 aile ve 157 türden oluşmaktadır (Çizelge 1.4).

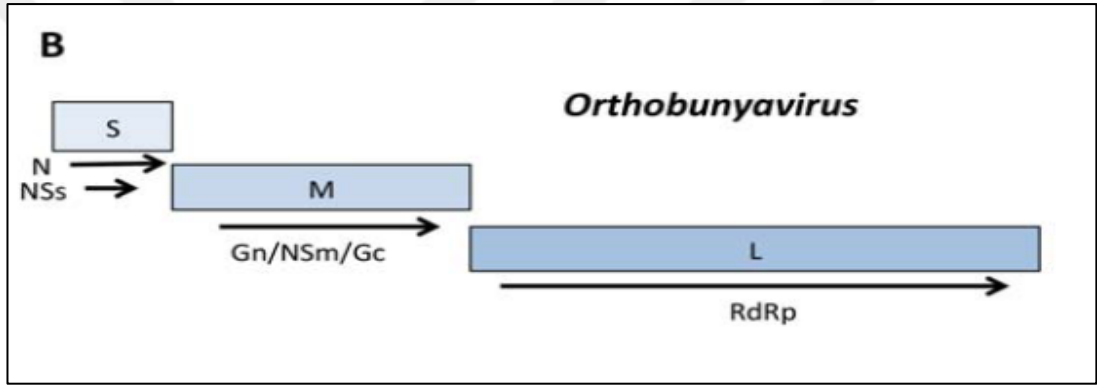
Çizelge 1.4. Bunyavirales takımında yer alan virus aileleri (ICTV, 2017).

Takım	Familya	Genus	Tür Sayısı
Bunyavirales	Feraviridae	Orthoferavirus	1
	Fimoviridae	Emaravirus	9
	Hantaviridae	Orthohantavirus	41
	Jonviridae	Orthojonvirus	1
	Nairoviridae	Orthonairovirus	12
	Peribunyaviridae	Herbevirus	4
		Orthobunyavirus	48
	Phasmaviridae	Orthophasmavirus	6
	Phenuiviridae	Goukovirus	3
		Phasivirus	4
		Phlebovirus	10
		Tenuivirus	7
	Tospovirus	Orthotospovirus	11

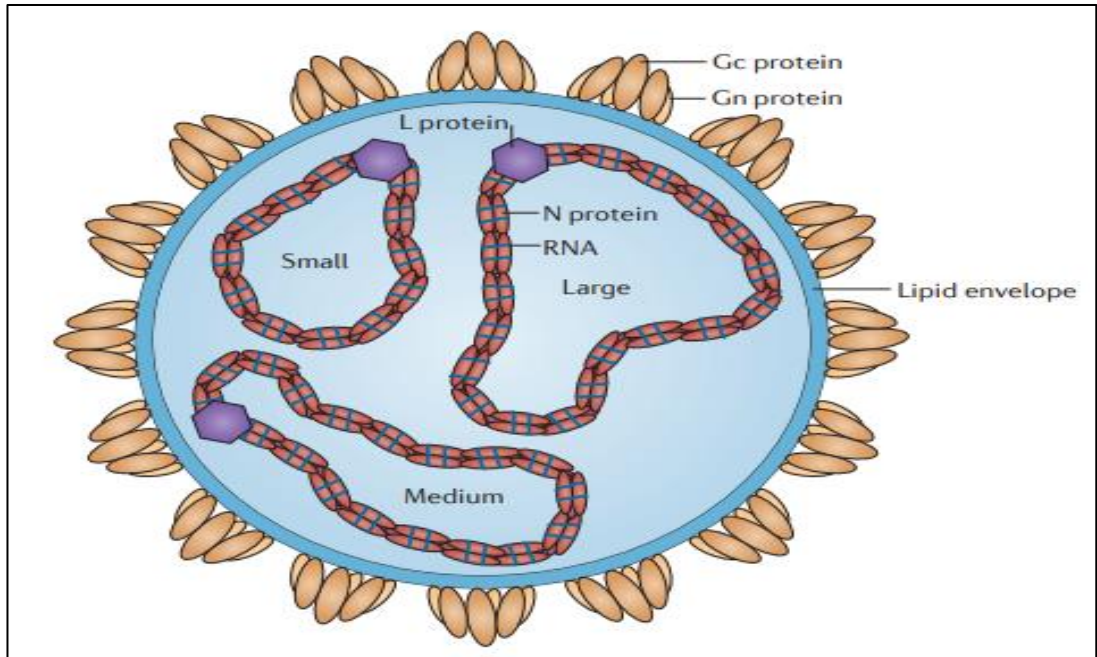
AKAV 3 segmentli, negatif polariteli ve tek iplikçikli RNA içerir. Elektron mikroskopta pleomorfik yapıda, çift membranlı, zarflı ve 90 nm olarak görülmektedir. Segmentler Large (L), Medium (M) ve Small (S) olmak üzere üç adettir (Şekil 1.5, Şekil 1.6). Segmentler yaklaşık olarak L: 6,9 kb, M: 4,5 kb, S:1 kb büyüklüğündedir. RNA segmentleri negatif polariteli olmasından dolayı, RNA pozitif polariteli mRNA'ya transkribe olmak zorundadır. L segmenti tarafından RNA'ya bağlı RNA polimeraz (RdRp) kodlanmakta ve RdRp transkripsiyon ve replikasyonu katalize etmektedir. L proteinin RNA sentezinde büyük önemi vardır (Elliott, 2014 ve Obijeski, 1976).

M segmenti 4300 bp uzunluğunda, iki adet zarf glikoproteini (Gn ve Gc) kodlar. Gn 32-35kDa, Gc ise 110-120 kDa büyüklüğündedir. Her iki protein de tip 1 integral proteindir; her iki protein N-bağlantılı glikolizasyon tarafından modifiye edilen proteinler olup, sistein yönünden zengindirler. Bu glikoproteinler hücre reseptörlerine tutunmada görev almaktadır. Gn virusun insekt hücrelerine tutunmasında rol oynarken, Gc ise virusun memeli hücrelerine tutunmasından ve nötralizasyondan sorumludur. M segmenti ayrıca yapısal olmayan m proteini de (nonstructural, NSm) kodlar. NSm proteini 16-18 kDa büyüklüğündedir. Görevi tam olarak bilinmemekle birlikte, viral replikasyon sırasında viral toplanma (assembly) ve morfogenezde rol oynadığı düşünülmektedir (Eifan ve ark., 2013).

S segmenti 858 bp uzunluğundadır ve N nükleoproteini ve NSs proteinini kodlar. N proteini yaklaşık 25-30 kDa boyutundadır. Enfekte hücrelerde üretilen bu protein, yüksek oranda immunojeniktir ve özellikle komplemanı fikze eden antikorların oluşumunu uyarır. NSs ise, 83-109 amino asit uzunluğundadır ve alfa/beta interferon antagonisti olarak rol oynayarak, konak-protein sentezini düzenlemede yardım eder. NSs proteini virusun üremesi için zorunlu değildir. NSs yoksun mutant viruslar hücre kültüründe ve farede üreyebilmektedirler. Bu protein vektör/konak immun sistem interaksyonlarında rol oynayarak viral patogeneze katkıda bulunur. NSs proteini ayrıca apoptosisle de ilişkili bulunmuştur (Elliott, 2014; Kohl ve ark., 2006; Ogg ve Patterson, 2007 ve Osborne ve Elliott., 2000).



Şekil 1.5. Orthobunyavirusların virion yapısı (Elliott, 2014).

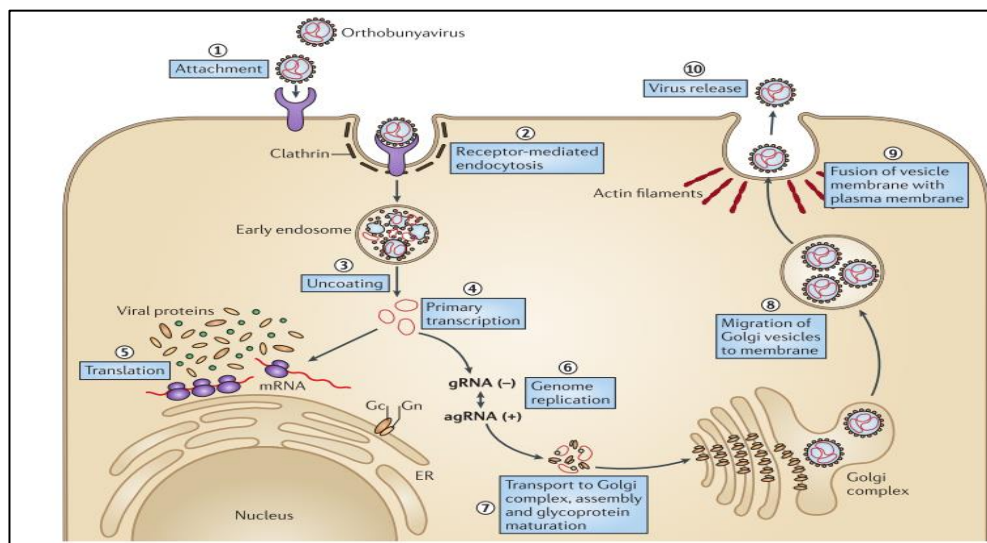


Şekil 1.6. Orthobunyavirusların şematik yapısı (Elliott, 2014).

S ve M segmentleri, komple dizin analizleri yapılarak karakterize edilmişlerdir. S ve M segmentlerine göre filogenetik analiz sonucunda, AKAV 4 farklı genogrup (I-IV) ve iki subgruba (Ia ve Ib) ayrılmaktadır. Genogrup Ia yaygın olarak Japonya ve Tayvan'da tespit edilmiş virusları, genogrup Ib İsrail, Türkiye ve bazı Japonya suşlarını içermektedir. Genogrup II ise, yaygın olarak Japonya ve Kore izolatlarını içermektedir. Avustralya'da 1968 yılında tespit edilen B8935 ve R7479 izolatı ile 1972'de Kenya'da tespit edilen MP496 izolatı sırasıyla genogrup III ve IV'de yer almaktadırlar. Genogrup Ia'da yer alan virusların genogrup II'den daha güçlü nörovirulens etkisi olduğu bildirilmektedir (Akashi ve Inaba, 1997; Oem ve ark., 2012a; Yang ve ark., 2008).

1.2.2. Orthobunyavirusların Replikasyon Siklusu

Orthobunyaviruslarda virusun hücreye tutunmasını takiben hücreye girişi Gn ve/veya Gc glikoproteinleri ile hücre yüzey reseptörleri arasındaki ilişki ile olmaktadır ancak reseptörler tanımlanamamıştır. Bunyaviruslardan olan Oropschue virus (OROV) ve Laa Cross Virusların (LACV) hücreye girişi kalatrin-aracılı endositosiz ile olmaktadır. Hücre içine giren virusun da içinde olduğu endositoz vezikülü asidifikasyon sayesinde soyulmaktadır (uncoating) (Şekil 1.7).



Şekil 1.7. Orthobunyavirusların replikasyon siklusu. (Elliott, 2014)

Daha sonra viral membran ile endozomal membranın füzyonu gerçekleşmektedir. Viral RNA bağımlı RNA polimeraz (RdRp) viral mRNA'nın primer transkripsiyonunu katalize etmektedir. Takiben viral mRNA translasyonu gerçekleşmektedir. Virus üretilmesi için negatif viral segmentler (genomic RNA), pozitif viral segmentlere (antigenomik RNA) dönüşmektedir. Gn ve Gc insersiyonu aracılığıyla oluşan ribonükleoproteinler golgi kompleksinin membranına taşınmakta ve golgi membranı ile ilişkili virus partikülü tomurcuklanmaktadır. Virus partikülü içeren golgi vezikülü hücre yüzeyine taşınmakta ve vezikül membranı plazma membranı ile etkileşim sonucunda enfektif virus partikülü aktin filamentleri aracılığıyla hücreden serbest kalmaktadır (Elliott, 2014).

1.2.3. Epidemiyoloji

1.2.3.1. Konakçı Aralığı

AKAV enfeksiyonu öncelikle koyun, keçi ve sığır gibi evcil ruminantlarda görülmektedir. Ayrıca virus deve, at, domuz ve rat gibi deney hayvanlarını da enfekte etmektedir. AKAV varlığı insanlarda rapor edilmemiştir. Etiyopya'da abort problemlili olan develerde, AKAV %46 oranında bulunmuştur (Meleku ve ark., 2016). Tayvan'da domuz popülasyonundan AKAV izolasyonu yapılmış ve izolat NT-14 elde edilmiştir. NT-14 suşunun oronasal yolla domuzları enfekte edebileceği bildirilmektedir. Tayvan'da domuzlarda AKAV seroprevalansı da %75 oranında bulunmuştur (Huang ve ark., 2003). Çin, Endonezya, Myanmar ve Vietnam'da yetiştirilen bir rodent türü olan Bamboo ratlarında da AKAV enfeksiyonu bildirilmiştir. Çin'de 2013, 2014 ve 2016 yıllarında yeni doğan ve erişkin ratlarda oluşan ölümlerin nedeni olarak AKAV genogrup Ia sorumlu tutulmuştur (Tang ve ark., 2017).

1.2.3.2. Bulaşma

Orthobunyavirusların çoğu sokucu ve *Culicoides* gibi kan emici sineklerle taşınmakta ancak bazıları kene ve böceklerle de taşınabilmektedir. AKAV prototipi olarak JAGAr39 suşu 1959'da Japonya'da *Aedes* ve *Culex* türü sineklerde tespit edilmiştir (Oya ve ark., 1961).

AKAV'ı *Culicoides* türlerinden Afrika'da *C.milne* ve *C.imicola*, Japonya'da *C.oxystoma*, *C.punctatus*, *C.maculatus* ve *C.jacobsoni*; diğer Asya ülkeleri, Avustralya ve Ortadoğu'da *C.oxystoma* taşımaktadır. Yapılan çalışmalarda *C.variipennis*, *C.nubeculosus* AKAV'a duyarlı bulunmuştur (Al-Busaidy ve Mellor, 1991; Jennings ve Mellor, 1989 ve Kurogi ve ark., 1987). Avustralya'da AKAV primer vektörü olarak *C.brevitaris* bildirilmiştir. Ayrıca AKAV, Japonya'da *Aedes vexans* ve *Culex triaeniorhynchus* ve Kenya'da *Anopheles fenestudan* izole edilmiştir. Avustralya'da bulunan *C.nubeculosus* ve *C.varriipennis* de virus replikasyonunu desteklediği bildirilmektedir (Kurogi ve ark., 1987; Metselaar ve Robin, 1976; Morag ve ark., 2012 ve Yanesa ve ark., 2005).

1.2.3.3. Coğrafik Dağılım

Yapılan araştırmalarda AKAV enfeksiyonu Orta Doğu'da, Japonya, Kore, İsrail, Türkiye, Çin, Sudan, Kenya, Avustralya, Asya ve Amerika'da yaygın olarak görülmektedir (Taylor ve Mellor, 1994). Japonya'da 1972-1975 yıllarında AKAV'a bağlı salgınlar oluşmuş ve konjenital anomalili yaklaşık 31.000 vaka bildirilmiştir. Bu salgınlar sığır yetiştiriciliği endüstrisinde ciddi ekonomik kayıplara neden olmuş ve sığır fötüslerinden OBE-1 suşu izole edilmiştir (Kurogi, 1976). Aynı şekilde Kore'de de 1988-1990; 2002-2006 yıllarında büyük salgınlar oluşmuştur (Shin ve ark., 2009).

Kore'de yaşları 4-72 aylık olan yaklaşık 500 sığırdaki klinik olarak lokomotor ataksiler, tremorlar ve aşırı duyarlılıkla karakterize nörolojik bozukluklar tespit edilmiş, yapılan moleküler çalışma sonucunda genogrup I ve genogrup II'de (ON-

2/E/94 ve KSB-4/P/95) yer alan AKAV suşları belirlenmiştir. Yine Kore’de 2006-2008 yıllarında kurulan ışık tuzaklarından toplanan *Culicoides*lerde nested RT-PCR ile AKAV (%1,44) tespit edilmiştir (Shin ve ark., 2009). İsrail’de 2001 yılında yapılan bir çalışmada 116 ışık tuzağı kurulmuş ve toplanan *C.imicolalardan* AKAV tespiti yapılmıştır (Stram ve ark., 2004). Çin’de yapılan bir çalışmada, 2006-2015 yılları arasında aşısız ve 6 aylıktan büyük olan 2215 sığır, 374 yak, 129 koyun ve 13 keçi serum örneği test edilmiş, sığırlarda %21,3 (471/2215), koyun ve keçide %12 (17/142) oranında seropozitiflik tespit edilmiş, yaklar ise negatif bulunmuştur (Wang ve ark., 2017). Irak’ta yapılan bir çalışmada AH sendromlu 42 buzağıdan alınan serum örneklerinin hepsi AKAV yönünden ELISA ile pozitif bulunmuştur (Alsaad ve ark., 2017).

Yukarıda bildirilen çalışmalara bakıldığında AKAV varlığının özellikle Asya ülkelerinde yaygın olduğu, zaman zaman salgınlara neden olabildiği görülmektedir. Virusun taşınmasında etkili olan *Culicoides* türlerinin zaman içinde ülkeden ülkeye farklılık gösterebildiği izlenmektedir.

Türkiye’de ise AKAV enfeksiyonuna ait ilk veri Hazıroğlu (1987) tarafından 1985 yılında Antalya ve İçel illeri çevresinde klinik olarak körlük ile dikkati çeken anomalili buzağı doğumu olgularında serolojik olarak ortaya konulmuştur. Çabalar ve Dağalp (2000) Güneydoğu Anadolu bölgesinde yaptıkları bir çalışmada 465 sığır kan serum örneğinde %13,70 (64/465) AKAV ve %25,8 (120/465) BTV seropozitifliği tespit etmişlerdir. Özgünlük (2003) Güney Doğu Anadolu Projesi (GAP) kapsamındaki illerde yaptığı çalışmada AKAV enfeksiyonunun seropozitiflik oranını %27,98, Karaoğlu ve ark. (2007) ise Trakya bölgesinde %0,14 olarak bulmuşlardır. Albayrak ve Özan, (2010) Orta Karadeniz bölgesinde yaptıkları bir çalışmada arboviral enfeksiyonların varlığını araştırmışlar ve AKAV’ın oranını sığırlarda %22, koyunlarda ise %0,5 olarak bulmuşlardır. Özgünlük ve ark. (2013) Aydın ili ve çevresinde yaptıkları bir çalışmada AKAV enfeksiyonunun seropozitiflik oranını %9,72 olarak belirlemişlerdir. Kars yöresinde yapılan bir çalışmada moleküler olarak AKAV tespit edilememesine rağmen, serolojik olarak sığırlarda %2,13 (8/376) oranında pozitiflik tespit edilmiştir (Yıldırım ve ark., 2015). Pestil (2014) de Marmara

bölgesinde yaptığı çalışmada AKAV antikor varlığını %0,08 (1/1200) oranında bulmuştur. Oğuzoğlu ve ark. (2015) Hatay ve Aydın'da aborte keçi fötüslerinde AKAV nükleik asit varlığını tespit etmişler ve virus filogenetik ağaçta genogrup II'ye yakın olarak bulunmuştur. Şevik (2017a) 2015 Ekim-2016 Ocak aylarında Antalya, Burdur ve Isparta'da 301 koyundan kan örneği ve 87 aborte koyun fötüsü almıştır. Serum örneklerinde AKAV'a karşı %44,9 oranında seropozitiflik (135/301) bulmuştur. Toplanan aborte fötüslerde viral RNA tespit etmiş ve filogenetik analiz sonucunda örneklerin genogrup 1b de yer aldığını bildirmiştir. Ayrıca Antalya'nın bazı ilçelerine kurulan ışık tuzaklarından *Culicoides*ler toplanarak yapılan tür tayini sonucunda *C.imicolada* AKAV nükleik asit varlığını tespit etmiştir (Şevik, 2017a ve Şevik, 2017b).

1.2.4. Klinik ve Patogenez

Orthobunyaviruslar özellikle merkezi sinir sistemini etkilemektedir. Gebeliğin erken dönemlerinde abortlara, gebeliğin orta ve geç dönemlerinde AH sendromuna neden olmaktadır. En sık görülen bulgular arthrogriposis, torticollis, skoliozis, brachygnathism, hydranencephali ve hydrocephalusdur.

AKAV enfeksiyonunda viremi 1-6 gün sürmektedir, antikor oluşumunun ardından virus kandan elimine edilmektedir. Virus gelişmekte olan fötüslerde uzun süre persiste kalabilmektedir. Duyarlı memelilerde enfeksiyonun ortaya çıkması hayvanın yaşına ve gebelik durumuna göre değişmektedir. Endemik bölgelerde çoğunlukla genç hayvanlar maternal antikorların etkisi azaldıktan sonra yaşamlarının ilk yıllarında enfekte olmaktadır (Kirkland, 2015).

Doğum sonrasında birçok AKAV suşu çoğunlukla asemptomatik enfeksiyona neden olmaktadır. AKAV gelişmekte olan fötüsler için teratojenik potansiyeli olan bir virustur. Fötüslerde AH sendromu ve merkezi sinir sistemi etkileri sonucu anomaliler oluşabilir. Virus ile enfekte sineklerin duyarlı hayvanları ısırmasını takiben virus kas dokuya girer ve hızlı bir replikasyona uğrayarak yüksek bir viremiye ulaşır. Daha

sonra birçok organa ve kan yoluyla kan beyin bariyerini geçerek merkezi sinir sistemi ve hedef nöronlara geçer (Elliott, 2014).

Gebe hayvanları insekt vektörün ısırmasının ardından yaklaşık 4 gün viremi sürer ve klinik belirti göstermeksizin virus plasentaya gelerek trofoblast hücrelerinde replike olarak fötusu enfekte eder. Çoğu türlerde gebeliğin orta döneminde virus etkili olmaktadır. Küçük ruminantlar gebeliğin 28-56. günlerinde, sığırlar 3-6. aylarda enfeksiyona duyarlıdır. Gebeliğin son dönemlerinde anomaliler düşük oranda şekillenmektedir (Uchida ve ark., 2000). Koyun ve keçilerde gebelik süresi ve duyarlılık periyodu kısa olduğundan, çoğunlukla ayak ve beyindeki defektler kombine olarak ortaya çıkmaktadır. Koyun ve keçilerde merkezi sinir sistemi etkilenmesine ek olarak pulmoner hipoplazi de şekillenebilmektedir (Jeong ve ark., 2017 ve Oem ve ark., 2012a).

Sığırlarda önemli defektler beyin ve spinal kordda meydana gelmektedir. İskelet kasları olumsuz etkilenmektedir. Beyinde hydranencephali, porencephali oluşmaktadır. AKAV'ın etkilediği fötuslar genellikle gebeliğin 4-6. aylarında ortaya çıkmakta bu hayvanlar muayane edildiğinde, eklemlerde katılaşmalar ve hydranencephali gözlenmektedir. Gebeliğin geç döneminde enfeksiyon meydana gelmişse, belirgin klinik belirti olarak akut encephalitis ve bacaklarda paraliz şekillenmektedir (Şekil 1.8). Gebeliğin 5-6. aylarında etkilenmişse, buzağular AH sendromlu olarak doğabilirler. Gebeliğin yaklaşık 6. ayındaki enfeksiyonlarda bir bacakta, bir ya da iki eklem etkilenbilir. Orta derecede etkilenen buzağular canlı doğabilir ve yaşamını sürdürebilirler.

AKAV erişkinlerde genellikle asemptomatiktir ancak İriki suşu gibi bazı AKAV suşları erişkin sığırlarda encephalitise neden olabilir. AKAV'ın saha izolatları arasında antijenik ve patojenik farklılıklar vardır (Akashi ve Inaba,1997; Akashi ve ark., 1997; Miyazato ve ark., 1989 ve Ogawa ve ark., 2007).



Şekil 1.8. AKAV enfeksiyonuna bağlı tortikollis ve eklemlerde arthrogripozis olgusu (Alshaad, 2017).

1.2.5. Teşhis

Enfeksiyonun klinik tanısında abortlar, anomalili doğumlar AKAV'ı düşündürse de, laboratuvar teşhisi gereklidir.

Viral teşhis için aborte fötusa ait dokular, kotiledon, vajinal swap ve viremi safhasında ise kan önemli materyaller olarak kabul edilmektedir. Ölen hayvanlardan alınan beyin, karaciğer, böbrek, dalak gibi organlarda immunohistokimyasal yöntemlerle AKAV tespit edilebilmektedir (Akashi ve Inaba, 1997; Akashi ve ark., 1997; Halıgür ve ark., 2014; Ogawa ve ark., 2007 ve Oluwayelu ve ark., 2016).

AKAV enfeksiyonunun tanısında günümüzde yaygın olarak RT-PCR teknikleri kullanılmaktadır. Real Time RT-PCR düşük miktardaki viral genomu tespit etmede önemlidir. Viral RNA virus inokulasyonundan 2 gün sonra tespit edilebilmektedir. Virusun moleküler tespiti için N geninin tespitine yönelik yapılan birçok çalışma vardır (Akashi ve ark., 1997; An ve ark., 2010 ve Yanase ve ark., 2005).

Ayrıca tanıda, immunohistokimya, immunfloresan, hemagglütinasyon inhibisyon testi, komplement fikzasyon, agar jel presipitasyon, ELISA, VNT ve virus izolasyon

teknikleri de kullanılmaktadır (Akashi ve ark., 1999; Halıgür ve ark., 2014; Miuray ve ark., 1974 ve Tsuda ve ark., 2004).

Virusun viremi safhası kısa olduğu için sığırlarda genellikle subklinik seyreder ve kandan hızlıca temizlenir; bu yüzden kandan virus izolasyonu zordur (Stram ve ark., 2004). Virus embriyolu tavuk yumurtası (ETY), fare, hamster gibi deneme hayvanlarında üretilebilmektedir; deneme hayvanlarında ölüm ya da konjenital anomaliler oluşabilmektedir (Akashi ve ark., 1997; Kirkland, 2015; Ogawa ve ark., 2007 ve Yang ve ark., 2012).

Serolojik tanıda VNT “Gold Standard” olarak kabul edilmektedir. Ancak bu yöntem pahalı ve zaman isteyen bir yöntemdir. VNT ile antikor titresi ¼’ ün üstünde olanlar pozitif olarak kabul edilmektedir. Ticari ELISA kitleri mevcuttur ve uygulaması kolay olduğundan VNT' ye alternatif bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Kittelberger ve ark., 2013).

1.2.6. Koruma ve Kontrol

Yeni doğan yavruların kolostrum alması çok önemlidir. Eğer anne AKAV antikora sahip ise, kolostrum aracılığıyla maternal antikorlar yavruya geçmektedir. Maternal antikorlar ortalama olarak 5-8 ay etkili olabilmektedir. Maternal antikorların etkinliği annenin antikor düzeyine, alınan kolostrum miktarına ve buzağı tarafından emilebilmesi gibi birçok faktöre bağlıdır (Edi ve ark., 2017).

Küresel ısınma *Culicoides* gibi vektörlerin dağılımını ve AKAV gibi vektörle bulaşan hastalıkları önemli oranda etkilemektedir. Bu nedenle hastalığa karşı alınacak tedbirlerin başında vektör mücadelesi gelmektedir. Vektör kontrolü amacıyla, insekt kovucular ve insektisidler kullanılarak kısa vadeli önlem alınabilir (Kirkland, 2015).

Aşılama programları hastalığın endemik olduğu bölgelerde uygulanmaktadır. Aşılamaların diğ er vektörle bulaşan hastalıklarda olduğu gibi, vektör aktivitesinden

önce duyarlı hayvanlara yapılması önerilmektedir. Hastalığın endemik olduğu Japonya ve Kore’de canlı ve inaktif aşılar kullanılmaktadır (Jeong ve ark., 2017; Kim ve ark., 2011; Ogawa ve ark., 2007 ve Tsutsui ve ark., 2009). Kore’de Aino, AKAV ve Chuzan virusa karşı inaktif trivalan aşı geliştirilmiştir. Gebe hayvanlarda da kullanılabilir (Oem ve ark., 2014). Bazı ülkelerde kullanılan AKAV aşuları genogrup II’yi içermektedir; ancak AKAV hastalığının mücadelesinde, üretilen aşılar da birçok ülkede sirküle eden genogrup Ia da bulunmalıdır (Oem ve ark., 2012b). Aşılanan hayvanlarda antikor tespitinin 4.günden itibaren yapılabildiği bildirilmektedir (Jeong ve ark., 2017).

Arthropod vektörlerde bovine arboviral genlerin tespiti gibi yıllık survey verileri ile düzenli izleme sistemi geliştirilmesi, özellikle mevsime bağlı olarak görülen hastalıkların kontrolünde etkili ve önemli bir yoldur (Shin ve ark., 2009).

1.3. Schmallerberg Virus (SBV) Enfeksiyonu

SBV enfeksiyonu süt üretiminde azalma, iştahsızlık, ateş, abort ve anomalili yavru doğumlarına neden olan çoğunlukla *Culicoides* türü sineklerle taşınan ruminantların önemli bir arboviral enfeksiyonudur. Bu hastalık ilk defa 2011 Ağustos-Ekim ayları arasında Almanya ve Hollanda sınırında görülmüş ve Frederik Loeffler Enstitüsü tarafından tanımlanmıştır (Hoffmann ve ark., 2012). Hastalığın pestivirus, Bovine Herpesvirus 1 (BoHV-1), BTV, Food and Mouth Diseases (FMD), Epizootic Hemorrhagic Disease (EHD), Rift Valley Fever Virus (RVFV) olabileceği düşünülmüş, yapılan metagenomik analiz sonucu yeni bir virus olduğu ortaya konmuştur. Daha sonra virus Almanya’da Schmallerberg şehrine yakın çiftliklerden toplanan örneklerde tespit edildiği için, Schmallerberg virus olarak adlandırılmıştır (Şekil 1.9). Kasım ayının sonunda Hollanda’da Animal Health Service tarafından SBV enfeksiyonuna bağlı ilk konjenital malformasyonlu yeni doğan kuzu vakaları bildirilmiş ve bu hayvanlardan toplanan beyin doku örneklerinde SBV izole edilmiştir (Hoffmann ve ark., 2012). Bu hastalık şimdiye kadar Almanya, Hollanda, Belçika, İngiltere, Fransa, İtalya, Lüksemburg, İspanya, Finlandiya, Danimarka, Estonya,

İsviçre, İrlanda, Norveç, İsveç, Polonya, Avusturya ve Türkiye’de bildirilmiştir (Azkur ve ark., 2013; İzzo ve ark., 2016; Larska ve ark., 2013a; Lievaart-Peterson ve ark., 2015; Rodríguez-Prieto ve ark., 2016 ve Lechner ve ark., 2017).



Şekil 1.9. Schmalleberg şehrinin Almanya’da yerleşimi (Esteves, 2012)

1.3.1. Etiyoloji

Etken Bunyavirales takımında, Peribunyaviridae familyasında Orthobunyavirus genusunda yer almaktadır (ICTV, 2017). SBV tipik Bunyavirusların yapısını göstermektedir. Virus zarflı ve yaklaşık 80-120 nm büyüklüğünde tek iplikçikli, negatif polariteli ve 3 segmentli RNA’ya sahiptir. Segmentler Large (L), Medium (M) ve Small (S) olmak üzere 3 adettir (Şekil 1.10). Her bir segmentin farklı görevleri vardır (Hoffmann ve ark., 2012).

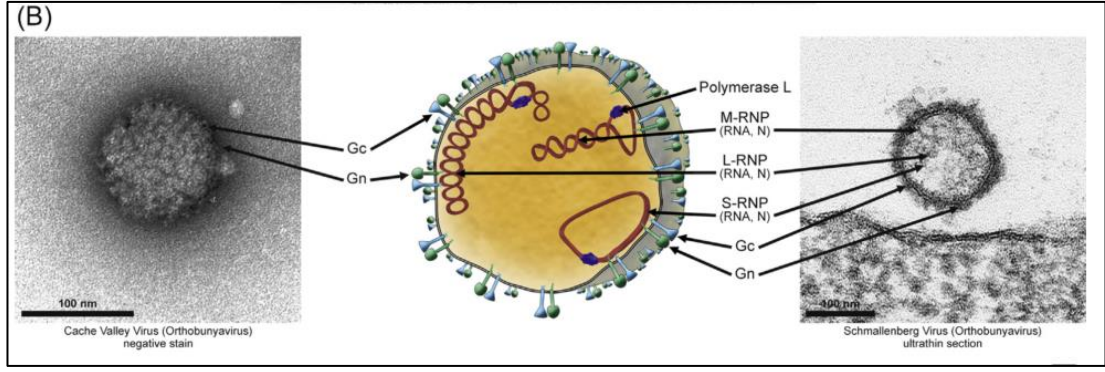
L segment RNA-dependent RNA polimeraz (RdRp) kodlar, M segmenti çok değişken bir bölgedir. NSm ve Gn-Gc kodlar, bunlar viral adezyon ve hücre füzyonu ile ilişkilidir. Gc viral partikülün yüzeyinde bulunur ve nötralizan antikordardan sorumludur. S segment N proteini ve NSs proteini kodlar. N proteinin temel görevi viral genomu sarmalamak, viral RNA transkripsiyonu ve replikasyonda rol oynamaktır. N proteini enfekte hücrelerde en fazla bulunan proteindir. (Şekil 1.11) Bu

nedenle moleküler ve serolojik çalışmalarda en çok hedeflenen proteindir. Son zamanlarda üretilen rekombinant SBV-N proteinine karşı üretilen monoklonal antikor serolojik araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Wernike ve ark., 2014).

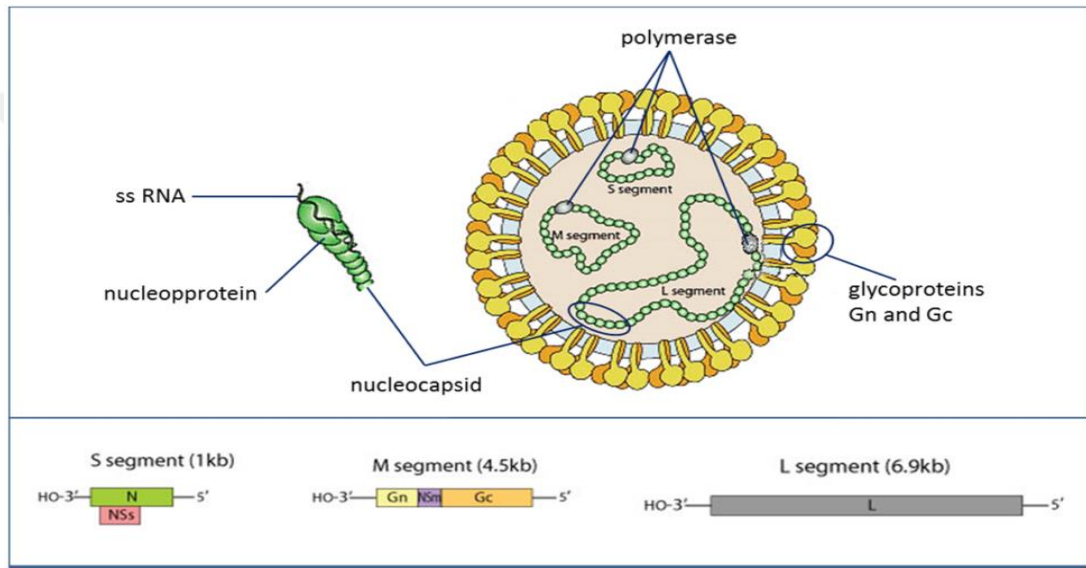
NSs proteini virusun memeli ve insekt hücrelerinde üremesi için zorunlu değildir. Memeli hücrelerinde NSs konak hücre protein sentezinin durdurulmasında ve interferon üretiminde rol oynar (İzzo ve ark., 2016; Kraatz ve ark., 2015 ve Wernike ve ark., 2014).

S segmentine yönelik çok sayıda çalışma bulunmaktadır ancak L ve M segmentine yönelik çalışmalar sınırlı sayıdadır. SBV S segmenti yönünden Shamando virusa (SHAV), M segmenti yönünden ise Shautuperi virus (SATV) ve Douglas virusa benzemektedir. L segmenti yönünden de SHAV'a benzemektedir. Bu verilere göre SBV'nin M segmenti SATV'dan L ve S segmenti ise SHAV'dan köken alarak yeni bir virus olarak ortaya çıkmıştır. S segmentine göre yapılan filogenetik analiz sonucu SHAV'a yakın bulunmuş ve SHAV-like virus olarak adlandırılmıştır (Goller ve ark., 2012; Hoffman ve ark., 2012 ve Yanase ve ark., 2012).

SATV yaklaşık 30 yıl önce Nijerya ve Hindistan'da ortaya çıkmıştır. 1960'lı yıllarda Nijerya'da SHAV sığır ve *Culicoides*lerden izole edilmiştir. SATV 1998'de, SHAV ise 2002'de Japonya'da *Culicoides*lerde tekrar bildirilmiştir (Goller ve ark., 2012; Bouwstra ve ark., 2013). Orthobunyaviruslarda reassortment olayı sık görülmektedir. Örneğin insanlarda ateşli hastalığa neden olan Ngari virus, Batai ve Bunyamwera virusun reassortmanı olarak ortaya çıkmıştır (Briese ve ark., 2006). Tinaroo virus (TINV) AKAV'dan köken almıştır. SATV ve SHAV, Afrika ve Asya'da benzer coğrafik bölgelerde bulunmakta ve aynı vektörlerle taşınarak, aynı konakçıları enfekte etmektedir. SHAV ruminatlarda önemli rol oynar ancak Avrupa'da daha önceleri hiç görülmediğinden Schmollenberg virus olarak adlandırılmıştır (Hoffman ve ark., 2012; Naslund ve ark., 2014 ve Yanasa ve ark., 2012).



Şekil 1.10. Schmallenberg virusun virion morfolojisi (Wernike ve ark., 2014).



Şekil 1.11. Schmallenberg virusun genom yapısı (Hechinger, 2015).

1.3.2. Epidemiyoloji

1.3.2.1. Konakçı Aralığı

SBV enfeksiyonu öncelikle koyun, keçi ve sığır gibi evcil ruminantlarda görülmektedir. Ancak bizon, alpaka, bufalo, geyik gibi yabani hayvanlarda da tespit edilmiştir. İsveç’de köpeklerde serolojik olarak tespit edilmiştir. İnterferon reseptörü olmayan farelerin de SBV’ye duyarlı olduğu gösterilmiştir. SBV ile etkilenmiş bölgelerden alınan insan kan örneklerinde SBV’ye rastlanmamıştır (Ducombe ve ark.,

2012; EFSA, 2012; Hoffmann ve ark., 2012; Sailleau ve ark., 2013; Wensman ve ark., 2013 ve Wernike ve ark., 2012).

Yabani hayvanlarda yapılan çalışmalarda SBV yönünden %30'un üzerinde seropozitiflik belirlenmiş ve vektör sezonunda seroprevalansta artış gözlemlenmiştir. Rakım olarak değerlendirildiğinde ise, rakımı 800 m'ye kadar olan bölgelerde pozitiflik yüksek iken 800-1500 m olan bölgelerde düşük oranda bulunmuştur. Ancak *Culicoides*ler 4500 m rakıma kadar yaşayabilmektedir. Özellikle dağlık bölgelerde yaşayan türlerde SBV daha yüksek oranda tespit edilmiştir. Bu anlamda yabani hayvanların evcil hayvanlar için risk teşkil edebileceği de vurgulanmaktadır (Kaufmann ve ark., 2012; Rossi ve ark., 2013 ve Rossi ve ark., 2017).

1.3.2.2. Bulaşma

SBV'nin bulaşması da diğer orthobunyaviruslarda olduğu gibi *Culicoides*ler aracılığıyla olmaktadır. *C. imicola* İtalya'nın Sardinya bölgesinde ana vektör olarak değerlendirilmektedir (İzzo ve ark., 2013). Belçika, Hollanda, Polonya ve Danimarka'da SBV vektörü olarak *C. obsoletus* kompleks bulunmuştur. *C. punctatus*, *C. chipterus*, *C. pulicaris*, *C. circumscriptus*, *C. riethi* de SBV vektörü olarak belirlenen diğer türlerdir. Kan emen sineklerde SBV'nin transovariyal taşınımı, ruminantlarda akut enfeksiyonun olmadığı zamanda bile virusun sinekte tespit edilmesi açısından önemli olup, virusun sinekte kışladığını göstermektedir (Goffredo ve ark., 2013; Larska ve ark., 2013b; Rasmussen ve ark., 2012 ve Regge ve ark., 2012).

SBV'nin taşınmasında diğer sokucu sineklerin rolünün araştırıldığı bir çalışmada Almanya'nın 17 bölgesinden toplanan *Culex pipines*, *Aedes vexans* gibi sivrisineklerde SBV yönünden pozitiflik tespit edilememiştir (Wernike ve ark., 2014).

SBV transplasental geçiş ile vertikal olarak bulaşmaktadır. Boğa semenlerinde viral genom tespit edilmiş ve suni tohumlama ile enfekte boğalardan dışı sığırlara aktarılabileceği bildirilmiştir (Hoffmann ve ark., 2013). Bu nedenle Avrupa'da

sığırlar, koyun ve keçilerden alınan sperma ile embriyo transferinde SBV için sınırlamalar getirilmiş; verici hayvanların SBV'den ari olması şartı konulmuştur. Rusya, Ukrayna, Kazakistan, Mısır ve Meksika enfeksiyonun görüldüğü ülkelerden embriyo ve sperma transferini durdurmuşlardır. Direkt olarak horizontal nakil bildirilmemiştir. Oro-nasal yolla virus inokule edilen koyun ve keçilerde enfeksiyon oluşmamıştır (Pawaiya ve Gupta, 2013 ve Wernike ve ark., 2014).

Ayrıca SBV ile kontamine bazı biyolojik ürünler (aşı, ticari serumlar gibi) ruminantlarda serokonversiyona ve hatta salgınlara neden olabilmektedir (Zhai ve ark., 2017).

1.3.2.3. Coğrafik Dağılım

SBV enfeksiyonu ülkemizde, Almanya, Hollanda, Belçika, İngiltere, Fransa, Lüksemburg, İtalya, İspanya, Danimarka, İsviçre, İsveç, Avusturya, Finlandiya, Polonya, İrlanda, Norveç, Çek Cumhuriyeti, Estonya, Macaristan, Slovenya, Hırvatistan, Litvanya, Yunanistan, Rusya, Sırbistan, Romanya gibi birçok Avrupa ülkesinde bildirilmiştir (Azkur ve ark., 2013; İzzo ve ark., 2013; Larska ve ark., 2013a; Lievaart-Peterson ve ark., 2015; Rodríguez-Prieto ve ark., 2016 ve Lechner ve ark., 2017).

Almanya'da 2011 yılında ilk defa ortaya çıkan SBV enfeksiyonu Avrupa'da hızlı bir şekilde yayılmıştır. Takip eden yıllarda da, Almanya'da erişkin sığırlarda yeni SBV vakaları görülmüştür (Wernike ve ark., 2014). Almanya'da yapılan bir çalışmada SBV şüpheli 12 kuzu ve 20 buzağıda periferal organlarda PCR ile pozitiflik bulunmuştur. Etkilenen hayvanlarda orta derecede muskuler hipoplazi tespit edilmiş; miyositlerin yerini adipoz doku almış ve fibrosis oluşmuştur. Yapılan bu çalışmanın sonucunda virusun periferal doku ve organları da etkilediği anlaşılmaktadır (Seehusen ve ark., 2014). Hollanda'da 80 kuzu, 1301 buzağı ve 65 oğlaktan alınan toplam 2166 beyin örneği test edilmiştir. Kuzu beyinlerinde %29, buzağı beyinlerinde %14 ve keçi beyinlerinde %9 oranında RT-PCR ile pozitiflik tespit edilmiştir. VNT ile yapılan

serolojik araştırmada ise koyunlarda %92, ineklerde %96 ve keçilerde %43 oranında seropozitiflik belirlenmiştir (Bouwstra ve ark., 2013). Hollanda'da daha sonra yapılan çalışmalarda da (Peperkamp ve ark., 2015 ve Veldhuis ve ark., 2013) enfeksiyonun yaygınlığı ortaya konmuştur.

Belçika'da Haziran- Eylöl arasında 81 koyun işletmesinden 501 serum örneği toplanmış ve toplanan serumlarda Haziran ayında %25, Temmuz ayında %30, Ağustos ayında %46 ve Eylöl ayında %61 seropozitiflik bulunmuştur (Sohier ve ark., 2017).

Türkiye'de yapılan retrospektif bir çalışmada 2006-2012 yıllarında toplanan 1362 serum örneği ELISA ile kontrol edilmiş ve hastalığın seroprevalansı sığırlarda %39,8, koyunlarda %1,6, keçilerde %2,8, mandalarda %1,5 tüm hayvanlar bazında ortalama ise %24,5 olarak bulunmuştur (Azkur ve ark., 2013). Yapılan başka bir çalışmada, aborte sığır ve koyun fötusunda PCR ile viral nükleik asit tespiti yapılmış ve dizin analizi sonucunda Avrupa'da seyreden virus ile benzerlik gösterdiği ortaya konulmuştur (Yılmaz ve ark., 2014). Kırıkkale ilinde yapılan bir çalışmada toplam 1038 hayvan örneklelenmiş ve örneklelen hayvanların %0.38'inin (4/1038) SBV özgül antikorları yönünden pozitif olduğu belirlenmiştir (Macun ve ark., 2017). Kırıkkale bölgesinde Tonbak ve ark. (2016) tarafından yapılan başka bir çalışmada abort problemlili olan sürülerden alınan örneklerde VNT ile seropozitiflik %24,1 (87/360) olarak bulunmuştur. Ayrıca aynı çalışmada PCR ile de pozitiflik bulunmuş ve sekans analizi sonucu Almanya'da 2012'de ortaya çıkan SBV ile %99 benzerlik tespit edilmiştir.

1.3.3. Klinik ve Patogenez

Hastalıkta inkubasyon periyodu 1-4 gün kadar sürmektedir. Yetişkin hayvanlarda akut enfeksiyonda ateş, anoreksi, genel kondüsyon düşüklüğü, süt veriminde azalma ve ishal görölür. Etkilenen hayvanlarda 2-3 hafta içinde iyileşme görölmemektedir. Etken gebe hayvanlarda abortlara, AH sendromlu ve anomalili yavru doğumlarına, mumifiye fötüs, ölü ya da zayıf yavru doğumlarına neden olmaktadır

(Şekil 1.12) (Varela ve ark., 2013). SBV enfeksiyonu geçirmiş hayvanlarda süt verimi normale dönememektedir (Lechner ve ark., 2017). Gebe hayvanlarda etkilenen doku ve organın plasenta, fötusta ise en çok dalak, cerebrum, spinal kord olduğu belirtilmektedir (Bilk ve ark; 2012).

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada intrauterin enfeksiyonlarda virusun fötusta nörotropizm gösterdiği belirtilmektedir. Koyunlarda yapılan çalışmalarda virusun gelişmekte olan fötüs beyin dokusunun nöronlarında replike olduğu tespit edilmiştir. Malformasyonlar genellikle koyunlarda gebeliğin 28-56. günlerinde, sığırlarda ise 60-172. günlerinde olmaktadır (Bessell ve ark., 2014). Koyunlarda özellikle gebeliğin 28-50. günleri arasında olan fötüsün beyin dokusunun virusa duyarlı olduğu belirtilmektedir. Bu dönem plasentomun oluştuğu ancak kan-beyin bariyerinin oluşmadığı dönemdir. Bu yüzden virus beyin dokusuna kolay bir şekilde gelebilmektedir. Koyunlarda kan-beyin bariyeri oluşumu gebeliğin 50-60. günlerinde başlar ve yaklaşık olarak 120. günde tamamlanır (Evans ve ark., 1974). Bu veriler ışığında, sığırlar için de patogeneze özellikle kan-beyin bariyeri gelişmeden önce virusun, fötüs beyin dokusunu etkileyebileceği belirtilmektedir (EFSA, 2012; Esteves ve ark., 2016; Meroc ve ark., 2013; Seehusen, 2014 ve Wernike ve ark., 2014).

Vektör sezonundan sonra SBV sineklerde persiste olarak kalmaktadır. Viral RNA'nın kanda tespiti maksimum 6 gündür. Ancak mesenterik lenf nodülleri gibi lenforetikuler dokularda SBV genomu daha uzun süre tespit edilebilir. Deneysel olarak enfeksiyondan 2-3 hafta sonra nötralizan antikorlar tespit edilebilmekte ve yeni enfeksiyonları önleyebilmektedir (Wernike ve ark., 2014).



Şekil 1.12. Bir kuzuda SBV'nin neden olduğu AH olgusu (Wernike ve ark., 2014).

1.3.4. Teşhis

Erişkin hayvanlarda belirgin bir klinik semptom olmadığından klinik olarak tespit etmek zordur. Ancak abort, anomalili doğum gibi vakalarda SBV enfeksiyonu düşünülmelidir. Virus tespiti daha çok moleküler yöntemlere dayanmaktadır. L ve S segmentine yönelik Real time RT-PCR ve konvansiyonel RT-PCR ile viral genom tespiti yapılmaktadır. Viremi safhası kısa olduğu için kanda viral genom tespiti zordur. SBV aborte fötusun özellikle beyin, spinal kord, plasenta, mekonyum, timus, dalak ve lenf nodülleri gibi birçok doku ve organında PCR ile tespit edilebilir. Yapılan bir çalışmada SBV kotiledonlarda %50 (5/10), amniyotik sıvıda %38,9 (7/18), umbilical kordda %38,5 (5/18) ve plasentomda ise %33,3 (6/18) oranında tespit edilmiştir (Martinelle ve ark., 2015).

Malformasyonlu doğumlar veya abort vakalarında plasental sıvılar teşhis için en uygun materyaldir (Bilk ve ark; 2012). Virus izolasyonu için insekt, hamster ve Vero hücre kültürleri kullanılmaktadır.

Serolojik olarak ise antikorlar enfeksiyonun 7. gününden itibaren tespit edilmeye başlanmaktadır (Martinelle ve ark., 2015). Antikor tespitinde VNT, indirekt immunfloresan ve ticari ELISA kitleri kullanılmaktadır. Özellikle geniş çaplı seroepidemiolojik çalışmalarda ELISA tekniği çok avantajlıdır. Ancak ELISA sonuçları, Simbu serogrubundaki diğer viruslar ile karışabilir. Bu nedenle VNT ve RT-PCR gibi ek testlerin yapılması önerilmektedir (Wernike ve ark., 2017). VNT gold standart test olarak kabul edilmektedir. Fötal serumlarda, kalp kanında ve prekolostral olarak alınan örneklerde antikor tespiti yapılarak enfeksiyonun transplasental olarak geçtiği de ortaya konulabilmektedir (Bilk ve ark., 2012; Ilchmann ve ark., 2017; Martinelle ve ark., 2015; Naslund ve ark., 2014; Rodriguez-Prieto ve ark., 2014 ve Wernike ve ark., 2014).

1.3.5. Koruma ve Kontrol

Koyunlarda koruyucu bağışıklığın 15 ay kadar sürebileceği belirtilmektedir. Virusun kandan tamamen temizlenmesi IgM (İmmunglobulin M) ve nötralizan antikorların oluşmasından sonra gerçekleşmektedir ve bu antikorlar enfeksiyondan 1 hafta sonra oluşmaktadır. Enfeksiyondan 2-3 hafta sonra SBV N spesifik IgG (İmmunglobulin G) oluşmakta ve 4 hafta sonra ise pik seviyeye ulaşmaktadır ve 1 yıldan daha fazla koruyuculuğu devam etmektedir (Poskin ve ark., 2015). Sığırlarda ise, doğal enfeksiyon sonucu kazanılan antikorların 24-36 ay persiste kaldığı bildirilmiştir (Elbers ve ark., 2014; Meroc ve ark., 2013).

Avrupa'da SBV'nin ortaya çıkmasından sonra, Simbu virusla ilişkili AKAV/AINO virusa karşı üretilen aşılardan, SBV'ye karşı spesifik aşı üretilene kadar hastalığın kontrolü için kullanılabileceği düşünülmüştür. AKAV/AINO/CHUV'u içeren trivalent aşı ile aşılamadan sonra oluşan AKAV ve Aino virus antikorlarının SBV'ye karşı koruma sağlamadığı bildirilmiştir (Hechinger ve ark., 2013).

SBV'ye karşı bugüne kadar üç ticari aşı üretilmiştir. Bu aşılardan hepsi de inaktif/adjuvantlı virus aşılardır. Koyun ve sığırlarda 3 hafta arayla iki doz olarak verildiğinde immunitiyi yeterince uyardığı gösterilmiştir (Wernike ve ark., 2013).

Aşılamalar, transplasental geçişin önlenmesi için gebelikten önce ve vektörlerin aktivitesi başlamadan önce yapılmalıdır. Son yıllarda NSs ve NSm proteinleri çıkartılarak yapılan delesyon mutant aşılardan geliştirilmektedir. Bu aşılardan sayesinde doğal enfekte hayvanlarla, aşılanmış hayvanların ayrımının (DIVA stratejisi) yapılabileceği belirtilmektedir (Kraatz ve ark., 2015).

Koyunlarda gebelik zamanının senkronizasyonu ile vektörlerin aktif olduğu dönemde koyunların gebe kalmasının engellenmesi aşılamadan yanı sıra etkili bir yol olarak düşünülebilir (Poskin ve ark., 2015).

1.4. *Culicoides*ler Hakkında Genel Bilgi

*Culicoides*ler (Diptera: Ceratopogonidae), en küçük kan emen sineklerdir. Vahşi hayvanlar, çiftlik hayvanları ve nadir olarak da insanları enfekte eden patojenleri taşırlar (Mellor ve ark., 2000). Antarktika ve Yeni Zelanda hariç, ekosistemde yaklaşık 1400 civarında *Culicoides* cinsi kan emici sokucu sineklerin varlığı bildirilmektedir. Bu türlerin 57'sinin Türkiye'de varlığı tespit edilmiştir (Dik, 1997). Genellikle dişi vektörler enfekte hayvanlardan kan emerler ve virusun taşınmasında etkili rol oynarlar. Ergin sinekler güçlü uçucu değildirler; ancak rüzgarla bir gecede, özellikle deniz üzerinde birkaç yüz km. pasif olarak gidebilirler (Sellers, 1992).

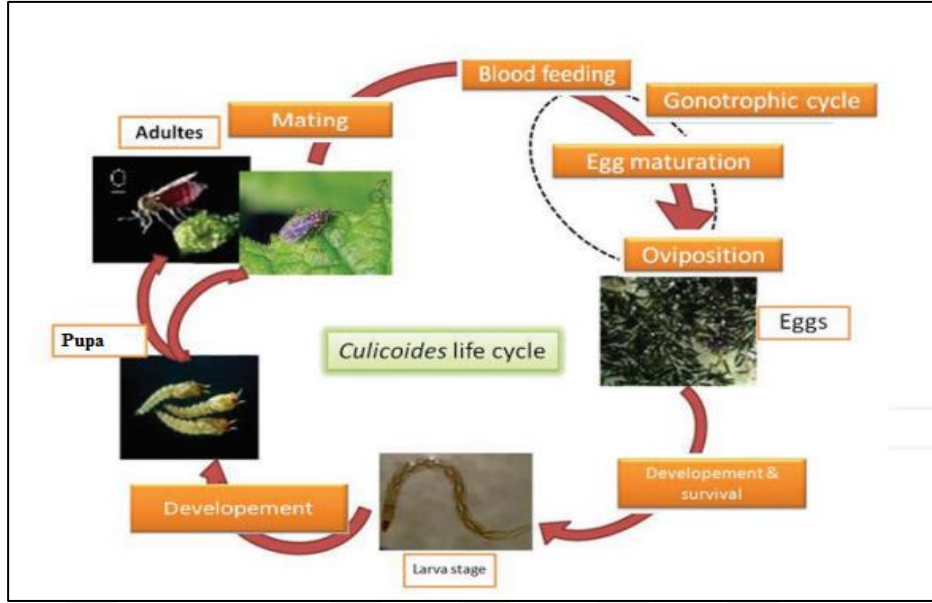
1.4.1. *Culicoides*lerin Yaşam Döngüleri

Ergin *Culicoides*ler daha çok nehir ve göl kenarlarında ve hayvan barınaklarına yakın yerlerde yaşarlar. *Culicoides* türlerinin çoğu ömürleri boyunca bir kez çiftleşirler. *Culicoides*lerde çiftleşme uçuş esnasında olmaktadır. Dişiler, çiftleşmeden sonra konaklardan kan emerler. Bu nedenle dişi *Culicoides*ler kan emebilmek için konaklarına yakın yerlerde saklanırlar (Şekil 1.13).

Culicoides türlerinin yaşamlarını etkileyen faktörler; ısı, ışık, nem, yağmur, rüzgar, deniz seviyesinden yükseklik sayılabilir. *Culicoides*lere 4500 metre yükseklikteki rakımlarda bile rastlanmaktadır (Contre ve ark., 2007 ve Dik, 1997). Bu sineklerin yaşam siklusunun birçok fazına ısı etki eder. Mevsime bağlı değişiklikler, örneğin soğuk bir kış ya da çok kuru bir yaz olması durumunda, şartlar yılın geri kalan zamanında uygun olsa bile vektör popülasyonunu azaltır. Ergin ve larvanın yaşaması yüksek kış ısısında mümkün olabilmektedir. Sineklerin yaşaması için en az 12,5 °C gereklidir. Bu durumda 8 ay yaşayabilirler (Sellers, 1992). Ancak BTV ve SBV'nin taşınmasında ana vektör olarak rol oynayan *C.obsoletus* kompleksin 3,5°C de sınırlı da olsa aktif olduğu, bu nedenle kışın da yayılmanın sürdüğü, aktif replikasyonun ise 12,5°C'nin üzerinde gerçekleştiği bildirilmiştir (Wernike ve ark., 2013; Davies ve Daly., 2013 ve Gubbins ve ark., 2014). Nem oranının yüksek olması uçuş aktivitesi

üzerine olumlu etki yapmaktadır. Nem oranının % 50' ye inmesiyle uçuş aktivitesinin azaldığı bildirilmektedir (El Sinnary ve ark., 1985 ve Walker, 1977). Bölgelerin iklim şartlarına göre *Culicoideslere* farklı aylarda rastlanmaktadır. *Culicoides* türlerinin özellikle Nisan ve Ekim ayları arasında yoğun olarak bulunduğu ancak Temmuz ve Eylül ayları arasında aktivite açısından pik yaptıkları bildirilmiştir (Dik, 1989; Dzhafarov ve ark., 1976 ve Mellor ve ark., 2000).

Culicoideslerin uçuş aktiviteleri türler arasında farklılık göstermektedir. Ancak söz konusu sinekler, genellikle alacakaranlıkta uçarlar ve uçuş aktiviteleri ile birlikte beslenme aktiviteleri de artar (Dik ve Ergül 2006 ve El Sinnary ve ark., 1985). *Culicoideslerin* akşam, havanın kararmasıyla birlikte aktivite gösterdikleri, gecenin ilerleyen saatlerine doğru kademeli olarak azalan aktivitelerinin sabah, güneşin doğuşuyla birlikte iyice azaldığı ve buna bağlı olarak beslenmelerinin de azaldığı bildirilmesine rağmen, bazı türler güneşli saatlerde de konaklardan kan emebilirler. *Culicoidesler* kan emmek için farklı konakları tercih ederler (Dik ve Ergül, 2006; Talevera ve ark., 2017 ve Viennet ve ark., 2013). Özellikle gün batımından- gün doğumuna kadar olan süreç, vektörlerin en aktif olduğu saatlerdir (Dik ve Ergül, 2006). Bazı viruslar kış boyunca aylarca erkek insekt vektörde enfekte kalabilir ve dişilerle birleşme zamanı virusu dişilere aktarabilirler. Dişiler de hayvanlardan veya insanlardan kan emerken virusu konakçıya aktarırlar (Allingham ve Standfast, 1990). Örneğin BTV, daha düşük ısılarda sinekte 35 gün persiste kalabilir; genelde kısa bir kıştan sonra gelen ilkbaharda olduğu gibi ısının artmasıyla virus sinekte replike olur. *Culicoidesler* küçük oldukları için genellikle uzun mesafelere uçamazlar. Rüzgarla, hava, deniz ve kara yolculuğuyla uzun mesafelere uçabilmekte hatta ülkeler arasında taşınabilmektedirler (Elbers ve ark., 2015 ve Murray, 1987).



Şekil 1.13 : *Culicoides* türlerinin yaşam döngüsü (Slame ve ark., 2017).



Şekil 1.14: Erişkin *Culicoides* morfolojisi

Culicoideslerin tür tayini yapılabilmesi için sahadan *Culicoidesler* toplanmaktadır. *Culicoideslerin* toplanmalarında değişik tip ve farklı özellikteki ışık tuzakları kullanılmaktadır (Şekil 1.15). *Culicoideslerin* Onderstepoort tip ışık tuzakları ile daha fazla toplandıkları bildirilmiştir (Probst ve ark., 2015). Onderstepoort ışık tuzakları temel olarak değişik özellikte ışık kaynağı, ışığa gelen *Culicoidesleri* çekmeye yarayan pille veya elektrikle çalışan bir fan ve altta yer alan toplama kabından oluşmaktadır.

Culicoideslerin tür tayini, türlerin morfolojik özellikleri dikkate alınarak özellikle kanatlardaki beneklerinin yapısına göre yapılmaktadır. Son yıllarda tür tayininde moleküler çalışmalardan da faydalanılmaktadır. *Culicoides* türlerinin

moleküler teşhisleri PCR tekniği ile mitokondrial cytochrome oxidase I geni (COI) veya internal transcribed spacer 1,2 (ITS-1, ITS-2) gibi ribozomal RNA genleri ve carbamoylphosphate synthetase, aspartate transcarbamylase and dihydroorotase (CAD) genleri hedef alınarak yapılmaktadır (Bellis ve ark., 2013).



Şekil 1.15 : *Culicoideslerin* toplanmasında kullanılan ışık tuzak tipleri (Probst ve ark., 2015).

1.4.2. Vektör *Culicoideslerin* Dünya ve Ülkemizdeki durumu

Dünyada 1400 *Culicoides* türünün yalnızca 50'si etkili BTV vektörü olarak bilinir. BTV enfeksiyonunun 1998 yılına kadar tropikal ya da sıcak bölgelerde (35°S-45°-50°N'e uzanan) varolduğu düşünülürken (Mertens ve ark., 1999) daha sonraki yıllarda daha önceleri BTV vektörü olduğu düşünülmeyen farklı *Culicoideslerin* güney ve güneydoğudan gelen BTV serotiplerini Avrupa'ya taşıdığı bildirilmiştir (De Liberato ve ark., 2005). Yine daha önceleri BTV enfeksiyonunun taşıyıcısı olarak düşünülmeyen *C.obsoletus* ve *C.pulicaris* son yıllarda Avrupa'da BTV-8'i taşıyan vektörler olarak görülmektedir (Wilson ve Mellor, 2009).

C.imicola tüm dünyada yaygın olarak bulunmaktadır ve duyarlı hayvanlara BTV'nin taşınmasında en etkin vektörlerden biridir. Güney Avrupa'da BTV salgınlarında *C.imicola* yaygın olarak belirlenen bir tür olmasına rağmen, Kuzey Avrupa'da henüz tespit edilmemiştir. Avrupa'da vektör olarak düşünülen bir kaç tür daha vardır; bunlar *C.obsoletus*, *C.pulicaris* ve *C. dewulfii* olarak sayılabilir. Bu türler Avrupa'da yaygın olarak bulunmaktadır ve Avrupa'da BTV yanı sıra SBV'nin de

taşınmasında rol oynamaktadır (Mellor, 1990; Mellor ve Wittman, 2002; Purse ve ark., 2008; Regge ve ark., 2012 ve Tatem ve ark., 2003).

AKAV'ı *Culicoides* türlerinden Afrika'da *C.milne* ve *C.imicola*, Japonya'da *C.oxystoma*, *C.punctatus*, *C.maculatus* ve *C.jacobsoni*; diğer Asya ülkeleri, Avustralya ve Ortadoğu'da *C.oxystoma* taşımaktadır. Yapılan çalışmalarda *C.variipennis*, *C.nubeculosus* AKAV'a duyarlı bulunmuştur (Al-Busaidy ve Mellor, 1991; Jennings ve Mellor, 1989 ve Kurogi ve ark., 1987). Avustralya'da AKAV primer vektörü olarak *C.brevitaris* bulunmuş, ayrıca *C.wadai*'den izole edilmiştir. Avustralya'da bulunan iki tür *C.nubeculosus* ve *C.varriipennisin* de virus replikasyonunu desteklediği bildirilmektedir (Kurogi ve ark., 1987; Metselaar ve Robin, 1976; Morag ve ark., 2012 ve Yanesa ve ark., 2005). İsrail'de 2001 de yapılan bir çalışmada 116 ışık tuzağı kurulmuş ve *C.imicola*'dan AKAV tespiti yapılmıştır (ISR-01) (Stram ve ark., 2004).

SBV'nin bulaşmasında ana vektör olarak *C.obsoletus* kompleks düşünülmektedir. *C.imicola* İtalya'nın Sardinya bölgesinde SBV'nin ana vektörü olarak değerlendirilmektedir (İzzo ve ark., 2013). Belçika, Hollanda, Polonya ve Danimarka'da SBV vektörü olarak *C.obsoletus* kompleks bulunmuştur. *C.punctatus*, *C.chiopterus*, *C.pulicaris*, *C.circumscriptus*, *C.riethi* de SBV vektörü olarak belirlenen diğer türlerdir (Goffredo ve ark., 2013; Larska ve ark., 2013a; Rasmussen ve ark., 2012 ve Regge ve ark., 2012). Fransa'da ulusal surveilans programı çerçevesinde Toplamda 2011 ve 2012 yıllarında 29285 *Culicoides* toplanmış, *C.obsoletus*, *C.scoitus*, *C.dewulfi*, *C.chiopterus*, *C.pulicaris*, *C.new-steady*, *C.lupicaris*, *C.imicola* ve *C.nubeculosus* türlerinde SBV tespit edilmiştir (Segard ve ark., 2017).

Belçika'da 2011 yılında 9 farklı bölgede koyun ve sığır çiftliklerine yakın yerlere ışık tuzakları kurulmuştur. Pozitif olan havuzlardan *C.obsoletus* kompleks, *C.dewulfi*, *C.chiopterus* belirlenmiş ve bu türler SBV'nin taşınmasında ana vektör olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada *C.pulicaris* pozitif bulunmuş ve bu türün hastalığın taşınmasında yeni bir vektör olabileceği vurgulanmıştır (Regge ve ark., 2012).

Türkiye’ de yapılan çalışmalarda şimdiye kadar 57 tane *Culicoides* türü tespit edilmiştir (Dik B., 1993, Dik ve Ergül.; 2006, Dik ve ark., 2012; Dik ve ark., 2014; Eren ve ark.; 1995, Uslu ve Dik, 2004, Uslu ve Dik, 2010 ve Yılmaz H., 1994). Akdeniz ve Ege bölgelerinde *C.imicola* ve *C. schultzei* kompleks, Orta Anadolu ve diğer bölgelerde *C.pulicaris* ve *C.obsoletus* kompleks bulunmaktadır (Dik ve Ergül, 2006). Dik ve ark. (2010) Hatay bölgesinde bulunan *Culicoides* türleri üzerine yaptıkları çalışmada 560 *Culicoides* yakalamışlar ve 15 tür tespit etmişler, *C.circumscriptus* ve *C.schultzei* kompleksin en yaygın türler olduğunu belirtmişlerdir. Dik ve ark. (2014) nın yine Hatay’ın da içinde bulunduğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu’da birkaç ilde yaptıkları çalışmada, *C. schultzei* dominant tür olarak bulunmuş; ayrıca *C.kibunensis* bölgede ilk defa yeni bir tür olarak tanımlanmıştır.

Arboviral enfeksiyonların görülmesine katkıda bulunan en önemli etkenler; dünya genelinde yaşanan iklim değişiklikleri, yani küresel ısınmaya bağlı olarak söz konusu hastalıkları taşıyan vektörlerin yaşam alanlarının genişlemesi, yaşam sikluslarının uzaması ile seyahat, ticaret gibi çeşitli sosyal aktiviteleri içeren antropojenik olarak adlandırılan faaliyetler sayılabilir (Tabachnick, 2010).

Ayrıca, segmentli genoma sahip olan bu virüslerde, quasispecies evrimin bir sonucu olarak gelişen ve virusun vertebralı/invertebralı konakçılar arasında seri pasajı sırasında oluşan antijenik drift, aynı konakçıda saha viruslarının kendi aralarında ve/veya aşı suşları ile oluşan reassortmentleri sonucu ortaya çıkan farklı suşlar/serotip/genotiplerin varlığı da salgınların görülmesine katkıda bulunan diğer faktörler olarak göz önünde tutulmalıdır (Bonneau ve Maclachlan, 2004).

Bu enfeksiyonların epidemiyolojisinin il/bölge/ülke düzeyinde araştırılması, moleküler teknikler ile hızlı ve güvenilir tanısının yapılabilmesi, serotip/genotip tayini söz konusu enfeksiyonların kontrolünde reaktif stratejilerin geliştirilebilmesinde büyük önem taşımaktadır. Hastalık tespitinin yanısıra, bu üç hastalık için de ana vektör olarak rol oynayan *Culicoideslerin* düzenli surveyansının yapılması bu çalışmalara katkıda bulunmaktadır. *Culicoidesler* ile mücadele ve virusa duyarlı hayvan

konakçıların hastalıktan ve/veya enfeksiyondan korunması arboviral enfeksiyonların kontrol altına alınmasında en önemli hedefdir.

Türkiye’de söz konusu arboviral enfeksiyonlar üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında, BTV enfeksiyonuna karşı yüksek oranda seropozitifliğin olduğu ve farklı serotiplerin bulunduğu görülmektedir (Gür ve ark., 2011; Karaoğlu ve ark., 2012; Kulaç ve ark., 2016 ve Yıldırım ve Yılmaz, 2010). Aynı şekilde Akabane enfeksiyonuna karşı seropozitiflik bölgeden bölgeye farklılık göstermektedir (Albayrak ve Özkan, 2010; Koç ve Erol 2017; Özgünlük., 2003, Özgünlük ve ark., 2013 ve Pestil, 2014). SBV enfeksiyonuna yönelik ülkemizde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Azkur ve ark., 2013; Macun ve ark., 2017; Tonbak ve ark., 2016 ve Yılmaz ve ark., 2014). Bu enfeksiyonları taşıdığı düşünülen *Culicoides* türlerinin/yaygınlığının araştırıldığı çalışmalar ise çok sınırlı sayıdadır (Yavru ve ark., 2009; Şevik, 2017a).

Türkiye’de BTV, AKAV ve SBV enfeksiyonlarının varlığına ilişkin çalışmalar bulunmasına rağmen, Hatay ili ve çevresinde bu etkenlerin varlığı, yaygınlığı, bu hastalıkları taşıdığı düşünülen vektör türleri ve dağılımları ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Hatay ili iklimsel olarak yazları sıcak, kurak ve nemli; kışları ılık ve yağışlı geçmektedir. Hatay ilinin Suriye’ye sınırı olması nedeniyle de sınırlardan illegal hayvan girişlerine bağlı olarak bölge birçok enfeksiyona da açık bir konumdadır. Tüm bu iklimsel ve sosyal faktörlerin kombinasyonunun, bölgede *Culicoides* türlerinin yaşaması/çoğalması ve yayılması için uygun bir ortam yarattığı ve buna bağlı olarak söz konusu sineklerle bulaşan hastalıklar yönünden bölgenin incelenmesinin, ruminantların arboviral enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve mücadelesi açısından değerli verilere ulaşılabilmesinde yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Bu amaçla, Hatay ilinde ruminant yetiştiriciliği yapılan işletmelerde arboviral enfeksiyonlardan BTV, AKAV, SBV enfeksiyonlarının varlığı/yaygınlığının serolojik ve moleküler yöntemler ile araştırılması amaçlanmıştır. Söz konusu enfeksiyonların ortak klinik tabloları olan abort, ölü doğum ve/veya anomalili yavru doğumu olgularının görüldüğü sürülerde bulunan yakın zamanda abort, ölü doğum/anomalili

yavru doğumu yapmış sığır, koyun ve keçiler ile birlikte barındırılan sağlıklı görünümlü hayvanlardan kan serumu örnekleri alınmış ve ELISA ile kontrol edilerek enfeksiyonun seroprevalansının belirlenmesi hedeflenmiştir. Bunun yanı sıra klinik bulgulu hayvanlardan antikoagulanlı kan örnekleri, vajinal swap, ölen/aborte fötustan doku örnekleri (karaciğer, dalak, lenf yumrusu, beyin) alınarak söz konusu etkenlerin RT-PCR yöntemleri ile viral nükleik asit varlığı yönünden araştırılması planlanmıştır. Pozitif olarak belirlenen örnekler dizin analizine alınarak, bölgede sirküle olan viruslar, ülkemizde ve diğer ülkelerde bulunan viruslar ile AKAV, BTV ve SBV yönünden serotip/genotip düzeyinde karşılaştırılacaktır. Araştırmada ayrıca söz konusu virusları taşıyan *Culicoides* türlerinin belirlenmesi amacıyla kurulacak tuzaklardan toplanan sineklerin, tür ayrımı/yaygınlığı yönünden identifiye edilmesinden sonra, söz konusu etkenlerin viral nükleik asit varlığı yönünden araştırılması hedeflenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre AKAV, BTV, SBV enfeksiyonlarının Hatay ilinde bazı ruminant türlerinde hızlı ve duyarlı tanı teknikleri kullanılarak epidemiyolojilerinin tespiti/izlenmesi ve vektör türlerinin belirlenmesinin, enfeksiyonların kontrol/eradikasyonuna yönelik olarak yapılabilecek çalışmaların önemli bir basamağını gerçekleştirmesinin yanı sıra, bu çalışmanın uzantısında yapılabilecek daha hızlı tanı teknikleri-multiplex PCR gibi-, yeni, daha etkin ve daha güvenli aşıların geliştirilmesi gibi çalışmalara da ışık tutabileceği ve elde edilen sonuçların bu konuyla ilgili bilimsel bilgi birikimine, ekonomik sığır yetiştiriciliğine ve koruyucu hekimliğe katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Serolojik ve Virolojik Çalışmalarda Kullanılan Örnekler

Bu araştırmada 2015-2017 yılları arasında Hatay'ın 6 farklı ilçesinde yer alan, halk elindeki işletmelerde barındırılan abort, ölü doğum ve/veya anomalili yavru doğumu olgularının görüldüğü sürülerde bulunan yakın zamanda abort, ölü doğum/anomalili yavru doğumu yapmış 6 ay yaşın üzerindeki sığır, koyun, keçiler ve bu hayvanlar ile birlikte barındırılan sağlıklı görünümlü hayvanlardan serolojik kontrol amacıyla kan serumu, virolojik kontrol amacıyla ise lökosit, vajinal swap ve aborte fötusa ait doku örnekleri (karaciğer, dalak, lenf yumrusu, beyin) alındı. Örnek alınan ilçeler ve örnek sayıları Çizelge 2.1'de verildi. Örnek alınan işletmelerde söz konusu hastalıklara karşı aşılama yapılmadığına dair işletme sahiplerinden bilgi alındı.

Serolojik kontrol amacıyla 224 sığır, 142 koyun ve 134 keçi olmak üzere toplam 500 serum örneği, virolojik kontrol amacıyla toplam 495 lökosit örneği (238 sığır, 119 koyun, 138 keçi), 89 swap örneği (31 sığır, 1 koyun, 57 keçi) ile 15 hayvana ait doku örnekleri (13 sığır ve 2 koyun) olmak üzere toplam 599 örnek alındı.

Araştırmada ayrıca, ruminant işletmelerine veya bu işletmelere yakın bölgelere *Culicoides* türlerinin yakalanması için Onderstepoort tip ışık tuzakları kuruldu. Işık tuzakları yaz mevsimi başlangıcı, yaz ortası ve yaz sonu olmak üzere üç farklı zaman diliminde kuruldu. Işık tuzakları, özellikle *Culicoides* türlerinin aktif uçuş zamanı olan gün batımında kuruldu ve ertesi sabah toplandı. Tuzak kurulan ilçeler Şekil 2.1'de verildi. Tuzaklardaki *Culicoides*ler kavanozlara konularak, sineklerin alındığı yer ve tarih yazılarak her kavanoz etiketlendi.

Alınan serum, EDTA'lı kan örnekleri, vajinal swap ve doku örnekleri soğuk zincir altında laboratuvara getirildi. Toplanan *Culicoides*ler ise tür ve cinsiyet tayini yapılmak üzere soğuk zincir altında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirildi ve Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Bilal DİK tarafından sineklerin tür/cinsiyet tayinleri yapıldı.

Çizelge 2.1. Örneklenen ilçelere göre serolojik ve virolojik kontrol amacıyla alınan örnekler

İLÇE	HAYVAN TÜRÜ	ALINAN ÖRNEKLER			
		Serolojik Kontrol	Virolojik Kontrol		
		SERUM	LÖKOSİT	SWAP	DOKU
Altınözü	Sığır	81	81	12	3
	Koyun	30	40	-	1
	Keçi	98	102	13	-
Antakya	Sığır	94	108	15	6
	Koyun	54	53	1	-
	Keçi	36	36	-	-
Kırıkhan	Sığır	24	24	-	-
	Koyun	-	1	-	1
	Keçi	-	-	23	-
Samandağ	Sığır	10	10	4	4
	Koyun	25	25	-	-
	Keçi	-	-	-	-
Yayladağı	Sığır	15	15	-	-
	Koyun	-	-	-	-
	Keçi	-	-	-	-
Hassa	Sığır	-	-	-	-
	Koyun	33	-	-	-
	Keçi	-	-	21	-
Genel Toplam	Sığır	224	238	31	13
	Koyun	142	119	1	2
	Keçi	134	138	57	-
		500	495	89	15
		599			



Şekil 2.1. Hatay haritası üzerinde ışık tuzakları kurulan ilçeler. ●: Işık tuzakları kurulan ilçeler.

2.1.2. PCR Tekniğinde Kontrol Olarak Kullanılan Viruslar

Real time RT-PCR ve konvansiyonel RT-PCR’da kullanılmak üzere pozitif kontrol amacıyla BTV için Etlik Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından üretilen BTV-4 canlı aşısı kullanıldı. AKAV için Anabilim Dalımız virus koleksiyonunda bulunan AKAV kullanıldı. SBV için Prof.Dr. Hüseyin Yılmaz’dan (İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı) temin edilen SBV yönünden pozitif olarak tespit edilen örneğe ait viral RNA kullanıldı.

2.2. Yöntem

2.2.1 Serum Örneklerinin Hazırlanması

Silikonlu tüplere alınan kan örnekleri 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip, serumları ayrıldı; stok tüplerine alınan serum örnekleri test edilinceye kadar -20°C'de korundu.

2.2.2. Lökosit Örneklerinin Hazırlanması

Antikoagulanlı tüplere alınan kan örnekleri 1500 rpm'de, 4°C'de, 10 dakika santrifüj edildi, daha sonra üstteki plazma tabakası atılarak alttaki lökosit tabakasından 400 µl steril ependorf tüplere alındı. Geriye kalan örnek ise steril stok tüplerine alınarak, test edilinceye kadar -80°C'de saklandı.

2.2.3. Doku ve Swap Örneklerinin Hazırlanması

Alınan doku örnekleri, laboratuvara ulaştıktan sonra 1/10 oranında Phosphate Buffer Saline (PBS) içerisinde homojenizatörde homojen hale getirildikten sonra 4000 rpm'de, 4°C'de, 15 dakika santrifüj edildi. Üst kısım nükleik asit tespitinde kullanılmak amacıyla, 400 µl steril ependorf tüplere alındı. Geriye kalan örnek steril stok tüplerine alınarak, -80 °C'de saklandı.

Swap örnekleri vortekste karıştırıldıktan sonra tüp içindeki sıvı steril tüplere alındı ve 4000 rpm'de, 4°C'de, 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonunda nükleik asit varlığını araştırmak için 400 µl steril ependorf tüplere alındı. Geriye kalan miktar ise, steril stok tüplerine aktararak -80°C'de saklandı.

2.2.4. *Culicoides* Örneklerinin Hazırlanması

Tür ve cinsiyet tayini yapılan *Culicoides*lerden her türden 1-100 adet olacak şekilde havuzlar oluşturuldu ve bu havuzlar metal boncuk yardımıyla homojen hale getirildi. Homojen hale getirilen örnekler 1,5 ml PBS içerisinde sulandırıldı. Sulandırılan örnekler 4000 rpm de, 4°C’de, 20 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan süpernatanttan viral RNA ekstraksiyonu yapıldı.

2.2.5. ELISA

Bu amaçla ticari olarak temin edilen, BTV için VP7 proteinine karşı oluşan antikorların tespiti (Bluetongue Virus VP7 antikor test kit kat.no: P00450-5; IDEXX Montpellier, Fransa), SBV için nükleokapsit proteinine karşı oluşan antikorların tespiti (SBV antikor kat. no: 9942259; IDEXX Montpellier, Fransa) ve AKAV için ise Gc proteinine karşı oluşan antikorların tespiti için (AKAV antikor kat. no AK05-1602; JNC Corporation, Tokyo, Japonya) ELISA kitleri kullanıldı. Testler üretici firmaların belirttiği prosedüre göre yapıldı. Aşağıda kısaca protokoller verildi.

2.2.5.1. BTV (VP7) Antikor ELISA

Her bir serum örneği, pozitif ve negatif kontroller, tablet gözlerinde sulandırma sıvısı ile 1:5 oranında sulandırıldı ve oda ısısında (18-26 °C) 45±3 dakika inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrasında 1:20 oranında sulandırılan konjugattan, tüm gözlere 100 µl eklendi ve oda ısısında (18-26 °C) 45±3 dakika inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrasında tüm gözler 300 µl yıkama solüsyonu ile üç defa yıkandı ve sonrasında tüm gözlere 100 µl substrat solüsyonu konuldu. Oda sıcaklığında (18-26 °C), 10±3 dk karanlık ortamda inkubasyona bırakıldıktan sonra tüm gözlere 100 µl reaksiyonu durdurma solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. ELISA tabletleri 450 nm dalga boyuna sahip filtrenin kullanıldığı ELISA okuyucusunda (Titertek,

Finlandiya) değerlendirildi. Elde edilen absorbans değerleri, söz konusu kitin protokolünde belirtilen şekilde hesaplandı.

Sonuçların Değerlendirilmesi:

Örnek/Negatif Kontrol \geq %80 ise Negatif

$\%70 \leq$ Örnek/Negatif Kontrol \leq %80 ise Şüpheli

Örnek/Negatif Kontrol \leq %70 ise Pozitif olarak değerlendirildi.

2.2.5.2. SBV Antikor ELISA

Her bir serum örneği, pozitif ve negatif kontroller tablet gözlerinde 1:10 oranında sulandırma sıvısı ile sulandırıldı ve oda sıcaklığında (18-26 °C) 60±5 dakika inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrasında tüm gözler 300 µl yıkama solüsyonu ile üç defa yıkandı. Yıkama sonrasında tüm gözlere konjugattan 100 µl eklendi ve oda sıcaklığında (18-26 °C) 60±5 dakika inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrasında tüm gözler 300 µl yıkama solüsyonu ile üç defa yıkandı ve sonrasında tüm gözlere 100 µl substrat solüsyonu konuldu. Oda sıcaklığında (18-26 °C) 10±3 dk karanlık ortamda inkubasyona bırakıldıktan sonra, tüm gözlere 100 µl reaksiyonu durdurma solüsyonu eklenerek, reaksiyon durduruldu. ELISA tabletleri 450 nm dalga boyuna sahip filtrenin kullanıldığı ELISA okuyucusunda (Titertek, Finlandiya) değerlendirildi. Elde edilen absorbans değerleri, söz konusu kitin protokolünde belirtilen şekilde hesaplandı.

Sonuçların Değerlendirilmesi:

Örnek/Pozitif Kontrol $<$ %30 ise Negatif

$\%30 \leq$ Örnek/Pozitif Kontrol $<$ %40 ise Şüpheli

Örnek/Pozitif Kontrol \geq %40 ise Pozitif olarak değerlendirildi.

2.2.5.3. AKAV Antikor ELISA

Ön inkubasyon için 96 gözlü tablette ilgili gözlere 40 µl negatif kontrol, pozitif kontrol ve serum örnekleri konuldu. Sonrasında tüm gözlere 40µl 1:50 oranında

sulandırılmış antijen eklendi. Tabletler 37°C’de 30 dakika inkubasyona bırakıldı. Ön inkubasyonu yapılan örnekler antijenle kaplanmış olan tabletlere 50 µl olarak aktarıldı. Tabletlerin üzeri kapatılarak 37°C’de 60 dakika inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrasında tabletler 300 µl yıkama solüsyonu ile 4 defa yıkandı. Yıkama işlemi sonrası 1:100 oranında sulandırılmış konjugattan tüm gözlere 100 µl konularak, 37°C’de 30 dakika inkubasyona bırakıldı; daha sonra yıkama solüsyonu ile tekrar yıkama işlemi yapıldı. Son yıkama işleminden sonra tüm gözlere 100 µl substrat eklenerek, oda sıcaklığında 20 dakika inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrası tüm gözlere 50 µl reaksiyon durdurma solüsyonu eklendi ve reaksiyon durduruldu. ELISA tabletleri 450 nm dalga boyuna sahip filtrenin kullanıldığı ELISA okuyucusunda (Titertek, Finlandiya) değerlendirildi. Elde edilen absorban değerleri, söz konusu kitin protokolünde belirtilen şekilde hesaplandı.

Sonuçların Değerlendirilmesi:

İnhibisyon oranı (%) = $100 - \frac{\text{Örnek}}{\text{Negatif kontrol}} \times 100$ olarak formüle edildi. Elde edilen sonuçlar > %40 ise pozitif, < %40 ise negatif olarak değerlendirildi.

2.2.6. *Culicoideslerin* Tür ve Cinsiyet Tayini

Toplanan *Culicoideslerin* tür tayini steromikroskop altında kanatlarındaki benek yapılarına göre Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Bilal DİK tarafından yapıldı.

2.2.7. Viral RNA İzolasyonu

Virolojik kontrol amacıyla alınan toplam 599 örneğin (489 lökosit, 89 swap, 15 doku örneği) ve *Culicoides* havuzlarının üç virus yönünden viral nükleik asit varlığını araştırmak için RNA ekstraksiyonu Chomczynski ve Sacchi (1987) tarafından bildirilen yönteme uygun olarak yapıldı. Buz içerisinde 1,5 ml’lik ependorf tüplere her örnekten 400 µl alındı. Örneklerin üzerine aynı miktarda 400 µl solüsyon D eklendi ve 10 saniye vortekslendikten sonra, tüplerin üzerine 300 µl asit fenol, 300 µl klorofom

izoamilalkol (49:1) ve 100 µl 3M sodyum asetat eklendi. Örnekler tekrar 10 saniye vorteksle karıştırıldıktan sonra, 12500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası, üstte kalan kısımdan 700 µl alınarak, yeni steril 1,5 ml'lik ependorf tüplere alındı. Tüplerin üzerine eşit miktarda (700 µl), -20°C'de soğutulmuş izopropil alkol eklenerek, vorteksle edildi. Karışım nükleik asitin çökmesi için -80°C'de en az bir saat bekletildi. Bir saat sonrasında karışım oda sıcaklığında erimeye bırakıldı. Eriyen karışım, 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Ependorf tüpünün üst kısmı aspire edildikten sonra çökmüş olan viral RNA pelleti, %70'lik alkol ile yıkandı ve tekrar 14000 rpm'de, 3 dakika santrifüj edildi. Daha sonra %70'lik alkol aspire edildikten sonra alkolün uzaklaştırılması için pellet, 37°C'de 10 dakika bekletildi. Kurutulan pellet 30 µl deiyonize nükleaz taşımayan su ile süspanse edilerek, moleküler çalışmada kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

2.2.8. Real Time RT-PCR ile BTV, SBV ve AKAV Nükleik Asit Varlığının Araştırılması

Virolojik kontrol amacıyla alınan örneklerde (lökosit, vajinal swap, doku ve *Culicoides*) her üç virus için viral nükleik asit tespitinde kullanılan primer ve probler Çizelge 2.2'de verildi. BTV, SBV, AKAV varlığının ortaya konulması için yapılan Real Time RT-PCR tekniğinde, ticari olarak temin edilen one-step RT-PCR kiti (Qiagen, Rotor-Gene Probe RT-PCR Kit, Cat No: 204574, Hilden, Almanya) kullanıldı. Real time RT-PCR testi için Anabilim Dalımız laboratuvarında bulunan Rotorgene 6000 CORBET (Qiagen, Almanya) cihazı kullanıldı. Buz aküsü üzerinde hazırlanan 20 µl hacimli reaksiyon karışımının içersine; 12,5 µl 2X Rotor-Gene Probe PCR master miks, 5,25 µL distile su, 0,8 µL her iki primerden, 0,4 µl prob ve 0,25 µl Rotor-Gene enzim miks konuldu. Bu reaksiyon karışımının üzerine 5 µl RNA eklenerek toplam reaksiyon hacmi 25 µl olarak hesaplandı. Primer ve probler 10 pmol yoğunluğunda kullanıldı. Hazırlanan reaksiyon karışımları Rotorgene 6000 CORBETT (Qiagen, Almanya) cihazında, RNA'ların komplementer DNA'lara çevrilmesi ve sonrasında reverz transkriptaz enziminin inaktivasyonu için sırasıyla, 50°C'de, 30 dakika ve 95°C'de, 10 dakika bekletildi. Bu işlemi takiben, 40 siklus

olacak şekilde ön denatürasyon için 95°C’de 20 saniye ve annealing için 56°C’de 20 saniye bekletildi. Sonuçlar, cihaza bağlı olan bilgisayar yardımı ile test sırasında gerçek zamanlı olarak takip edildi.

Çizelge 2.2. Real time RT-PCR’da kullanılan primer ve prob dizinleri

Primer	Primer ve Prob Dizini (5’— 3’)	Hedef bölge	Ürün (bp)	Kaynak
SBV- S- 382- F	TCA GAT TGT CAT GCC CCT TGC	S-Seg	88	(Bilk ve ark., (2012)
SBV - S-469- R	TTC GGC CCC AGG TGC AAA TC			
Prob	FAM-TTA AGG GAT GCA CCT GGG CCG ATG GT-BHQ1			
BTV Seg1 RSA-F	GCG TTC GAA GTT TAC ATC AAT	Seg-1	97	Shaw ve ark., (2007)
BTV Seg1 RSA-R (East)	CAG TCA TCT CTC TAG ACA CTC TAT AAT TAC G			
BTV Seg1 UNI-F	GCT TTT GAG GTG TAC GTG AAC		91	
BTV Seg1 UNI-R (West)	TCT CCC TTG AAA CTC TAT AAT TAC G			
Prob	FAM-CGG ATC AAG TTC ACT CCA CGG T-TAMRA			
AKA F	TGA CTG CAG AAG ART GGA TGA	S-Seg	80	Lee ve ark., (2015)
AKA R	GAA TCC AGA TTT GGC CCA			
Prob	FAM-ATC TAA GTT GGACGC A- BHQ1			

2.2.9. Konvansiyonel RT-PCR

Real time RT-PCR ile pozitif olarak tespit edilen örnekler, dizin analizi amacıyla konvansiyonel RT-PCR ile test edildi. Konvansiyonel RT-PCR için kullanılan primerler Çizelge 2.3’de gösterildi.

BTV, SBV ve AKAV’ın birinci turu Thermo Scientific Verso 1-Step RT-PCR Reddy Miks (#AB-1454/LD/B); AKAV’ın ikinci turu için ise, Thermo Scientific Taq DNA Polimeraz (#EP0402) kullanılarak yapıldı. Onestep-RT-PCR’in ve nested-PCR’in miks bileşenleri ve döngülerine ait zaman/siklus bilgileri Çizelge 2.4’de ve Çizelge 2.5’de gösterildi.

Çizelge 2.3. Konvansiyonel RT-PCR’da kullanılan primer dizinleri

Primer	Primer Dizini (5’— 3’)	Hedef bölge	Ürün (bp)	Kaynak
SBVF1	CAA GGC TAG TGT CCT CAA AC	S- Seg	256	Yılmaz ve ark., (2014)
SBVR1	TCC ATT CTT CAG CAG TCA TT			
BTV- Seg 10- F	GTT AAA AAG TGT CGC TGC CAT G	Seg-10	822	Nikolakaki ve ark.(2005)
BTV- Seg 10- R	GTA AGT GTG TAG CGC CGC ATA CCC T			
Akav-F-N	ATG GCA AAT CAA TTC ATT TTC	S- Seg	702	Yang ve ark., (2008)
Akav-R-N	TTA GAT CTG GAT ACC AAA			
Nested AKA42-F	CAG AAG AAG GCC AAG ATG GT	S- Seg	425	Oem ve ark., (2012a)
AKA425-R	AAT GCA GCC TTG ACT GCG TCC			

BTV seg-10, SBV seg-S ve AKAV seg- S gen bölgeleri için uygulanan oneStep-RT-PCR için kullanılan primerlerle ilgili olarak annealing derecelerinde farklılıklar olmakla birlikte, cDNA sentez aşaması 42 °C’de 60 dk, başlangıç denatürasyonu 95 °C’de 5 dk, denatürasyon aşaması 95 °C’de 1 dk, uzama aşaması 72 °C’de 1 dk ve son uzama aşaması 72 °C’de 10 dk olarak, toplam her PCR döngüsü BTV için 40 siklustan SBV ve AKAV için ise 35 siklustan oluştu (Çizelge 2.4). Bu uygulamalarda annealing derecesi olarak BTV için 52°C, SBV için 54°C ve AKAV birinci turu için 50°C uygulandı. AKAV için kullanılan nested-PCR için ise annealing derecesi 55°C olacak şekilde, başlangıç denatürasyonu 94°C’de 5 dk, denatürasyon aşaması 94°C’de 1 dk, annealing aşaması 55°C’de 1 dk, uzama aşaması 72°C’de 30 s ve son uzama aşaması 72°C’de 10 dk olarak, toplam her PCR döngüsü 35 siklustan oluştu (Çizelge 2.5).

Çizelge 2.4. OneStep-RT-PCR birinci tur miks bileşenleri ve programı

Bileşen	Konsantrasyon (µl)	Isı döngüleri
Verso Enzim Mix	0,5	42 °C'de 60 dk 95 °C'de 5 dk 95 °C'de 1 dk (*) °C'de 1 dk 72 °C'de 1 dk 72 °C'de 10 dk } 35-40 siklus
2X 1-Step ReddyMiks	12,5	
RT Enhancer	1,25	
Primer F(10 pmol/µl)	0,5	
Primer R (10 pmol/µl)	0,5	
Nükleaz Free Su	6,75	
RNA	3	
Toplam	25	

* Her virus için annealing dereceleri metinde belirtildi.

Çizelge 2.5. AKAV için nested-PCR miks bileşenleri ve programı

Bileşen	Konsantrasyon (µl)	Isı döngüleri
10 X Taq buffer	3	94 °C'de 5 dk 94 °C'de 1 dk 55 °C'de 1 dk 72 °C'de 1 dk 72 °C'de 10 dk } 35 siklus
MgCl ₂ (25 mM)	2,4	
10 mM dNTP mix	0,5	
Primer F (10 pmol/µl)	0,5	
Primer R (10 pmol/µl)	0,5	
Taq DNA polymerase (5u/µl)	0,25	
Nükleaz Free Su	19,85	
RNA	3	
Toplam	30	

2.2.10. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektrofrez

PCR sonucunda elde edilen ürünleri görüntülemek için, ethidium bromid içeren (Sigma, ABD) %1'lik agaroz jel (Prona, EU) hazırlandı. Agaroz jelin hazırlanmasında ve tank tamponunda Tris Asetat Ethylene Diamine Tetra Acetic acid (TAE) solüsyonu kullanıldı. Isı yardımıyla 0,5xTAE solüsyonu içinde çözülen agaroz, biraz soğutulduktan sonra üzerine ethidium bromide (0,5 µg/ml, Sigma, ABD) solüsyonu eklendi. Soğutulan agaroz jel karışımı, jel tarakları yerleştirilmiş olan jel taşıyıcısına döküldü. Donan agaroz jeldeki taraklar çıkarılarak, elektrofrez tankına yerleştirildi. Thermo Scientific Verso 1-Step RT-PCR Reddy Miks kullanılan PCR örnekleri doğrudan, diğer PCR ürünleri ise yükleme boyası (6x Loading Dye, Fermentas,

Litvanya) ile 1 kısım boyaya 5 kısım PCR ürünü olacak şekilde karıştırılarak, tarakların çıkarılmasıyla oluşan kuyucuklara dikkatlice konuldu. Ürün büyüklüğünün yaklaşık olarak belirlenebilmesi için 100 bp'lik marker (Fermentas, Litvanya) solüsyonundan (1 kısım stok marker + 1 kısım yükleme boyası + 4 kısım su) her bir kuyucuğa 1 µl olarak yüklendi. Daha sonra ürünler elektrik akımına tabi tutularak (8 volt/cm), yaklaşık 30 dk sonra jel görüntüleme sistemi (Kodak, Gel Logic 100, ABD) ile PCR sonucu oluşan DNA bantları görüntülendi.

2.2.11. Dizin Analizi

RT-PCR ile elde edilen PCR ürünlerinin pürifikasyonu ve dizin analizi ticari bir firmadan (MedSanTek Lab. Malz. San. ve Tic. Ltd. Şti.) hizmet alımı şeklinde gerçekleştirildi. Analiz sonrası elde edilen ham veriler, National Center Biotechnology Information (NCBI) servisinin Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) web sayfasından sağlanan (BankIt: GenBank Submissions) hizmetten yararlanılarak tanımlandı. Dizinler, Aliview (Larsson, 2014) ve Multiple Sequence Comparison by Log- Expectation (MUSCLE) yazılımı (Edgar, 2004) kullanılarak kendi aralarında karşılaştırıldı. Aynı programın çoklu hizalama (multiple alignment) özelliğinden yararlanılarak Gen Bankasından elde edilen diğer viruslarla hizalandı.

2.2.12. Filogenetik Analiz

Bu çalışmada elde edilen virüslere ait dizinlerin, daha önceki çalışmalarda tespit edilen virus dizinleri ile arasındaki genetik yakınlığın ortaya konulması amacıyla, nükleik asit dizinleri üzerinden gerçekleştirilen filogenetik analiz için MEGA versiyon 6.0 (Tamura ve ark., 2013) programı kullanıldı. Bu amaçla FASTA formatına çevrilen tüm verilere Neighbour-Joining metoduna göre bootstrap analizi (1000 replicates) yapıldı. Analizde p-distance parametresi kullanıldı.

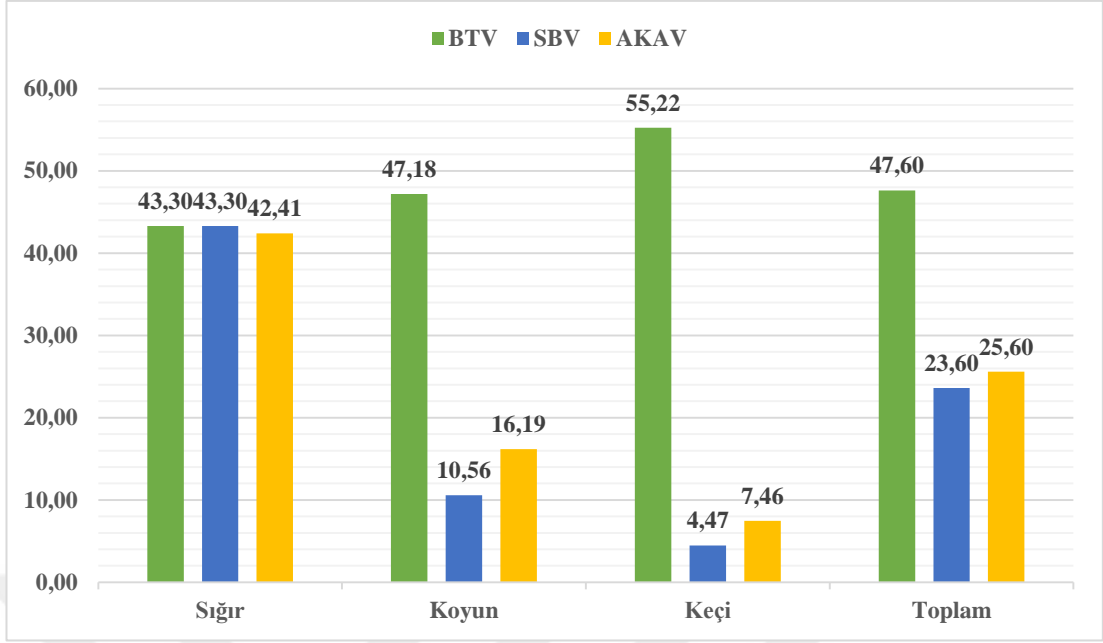
3. BULGULAR

3.1. ELISA Sonuçları

BTV, SBV ve AKAV spesifik antikor tespiti için yapılan ELISA sonucunda BTV enfeksiyonu için seropozitiflik oranı sığırlarda %43,30 (97/224), koyunlarda %47,18 (67/142), keçilerde %55,22 (74/134) ve toplam hayvan sayısı bazında %47,60 (238/500) olarak tespit edildi. SBV enfeksiyonu için seropozitiflik oranı sığırlarda %43,30 (97/224), koyunlarda %10,56 (15/142), keçilerde %4,47 (6/134) ve toplam hayvan sayısı dikkate alındığında %23,60 (118/500) olarak tespit edildi. AKAV enfeksiyonu için seropozitiflik oranı sığırlarda %42,41 (95/224), koyunlarda %16,19 (23/142), keçilerde %7,46 (10/134) ve toplam hayvan sayısı dikkate alındığında ise %25,60 (128/500) olarak tespit edildi. Kontrol edilen örneklerin ilçelere ve hayvan türlerine göre seroprevalansı Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1’de verildi.

Çizelge 3.1. Materyal sağlanan hayvan türleri ve yerleşim yerlerine göre BTV, SBV ve AKAV spesifik antikor varlığı sonuçları

İlçe	Tür	Serum sayısı	BTV		SBV		AKAV	
			(+)	%	(+)	%	(+)	%
Altınözü	Sığır	81	25	30,86	27	33,33	29	35,80
	Koyun	30	19	63,33	4	13,33	6	20
	Keçi	98	68	69,38	4	4,08	3	3,06
	Ara Toplam	209	112	53,58	35	16,74	38	18,18
Antakya	Sığır	94	34	36,17	33	35,10	38	40,42
	Koyun	54	15	27,77	5	9,25	11	20,37
	Keçi	36	6	16,66	2	2,04	7	19,44
	Ara Toplam	184	55	29,89	40	21,73	56	30,43
Kırıkhan	Sığır	24	24	100	24	100	19	79,16
	Koyun	-	-	-	-	-	-	-
	Keçi	-	-	-	-	-	-	-
	Ara Toplam	24	24	100	24	100	19	79,16
Samandağ	Sığır	10	9	90	8	80	6	60
	Koyun	25	0	0	0	0	0	0
	Keçi	-	-	-	-	-	-	-
	Ara Toplam	35	9	25,71	8	22,85	6	17,14
Yayladağı	Sığır	15	5	33,33	5	33,33	3	20
	Koyun	-	-	-	-	-	-	-
	Keçi	-	-	-	-	-	-	-
	Ara Toplam	15	5	33,33	5	33,33	3	20
Hassa	Sığır	-	-	-	-	-	-	-
	Koyun	33	33	100	6	18,18	6	18,18
	Keçi	-	-	-	-	-	-	-
	Ara Toplam	33	33	100	6	18,18	6	18,18
Toplam	Sığır	224	97	43,30	97	43,30	95	42,41
	Koyun	142	67	47,18	15	10,56	23	16,19
	Keçi	134	74	55,22	6	4,47	10	7,46
	Genel Toplam	500	238	47,60	118	23,60	128	25,60



Şekil 3.1. Materyal sağlanan hayvan türlerine göre BTV, SBV ve AKAV spesifik antikor varlığı oranları

Ayrıca serum örnekleri kontrol edilen hastalıklar yönünden tekli, ikili ve üçlü antikor varlığı yönünden değerlendirildi. Toplanan sığır örneklerinin %34,82'si (78/224) sadece bir enfeksiyon yönünden, %16,07'si (36/224) ikili enfeksiyon yönünden ve %20,98'i (47/224) üçlü enfeksiyon yönünden seropozitif olarak tespit edilirken, toplam sığır örneklerinin %71,87'si (161/224) söz konusu enfeksiyonların en az birisi için seropozitif olarak değerlendirildi.

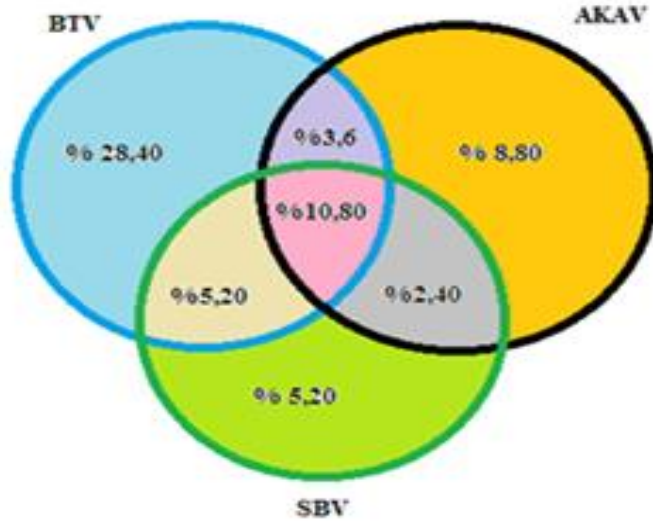
Örneklenen koyunların %44,36'sı (63/142) sadece bir enfeksiyon, %10,56'sı (15/142) ikili enfeksiyon yönünden ve %2,81'i (4/142) üçlü enfeksiyon yönünden seropozitif olarak tespit edilirken, toplam koyun örneklerinin %57,74'ünde (82/142) söz konusu enfeksiyonların en az birisi için antikor varlığı tespit edildi.

Toplanan keçi örneklerinin %52,98'i (71/134) sadece bir enfeksiyon yönünden, %3,73'ü (5/134) ikili enfeksiyon yönünden ve %2,23'ü (3/134) üçlü enfeksiyon yönünden seropozitif olarak bulunurken, toplam keçi örneklerinin %58,95'inde (79/134) söz konusu enfeksiyonların en az birisi için antikor varlığı tespit edildi.

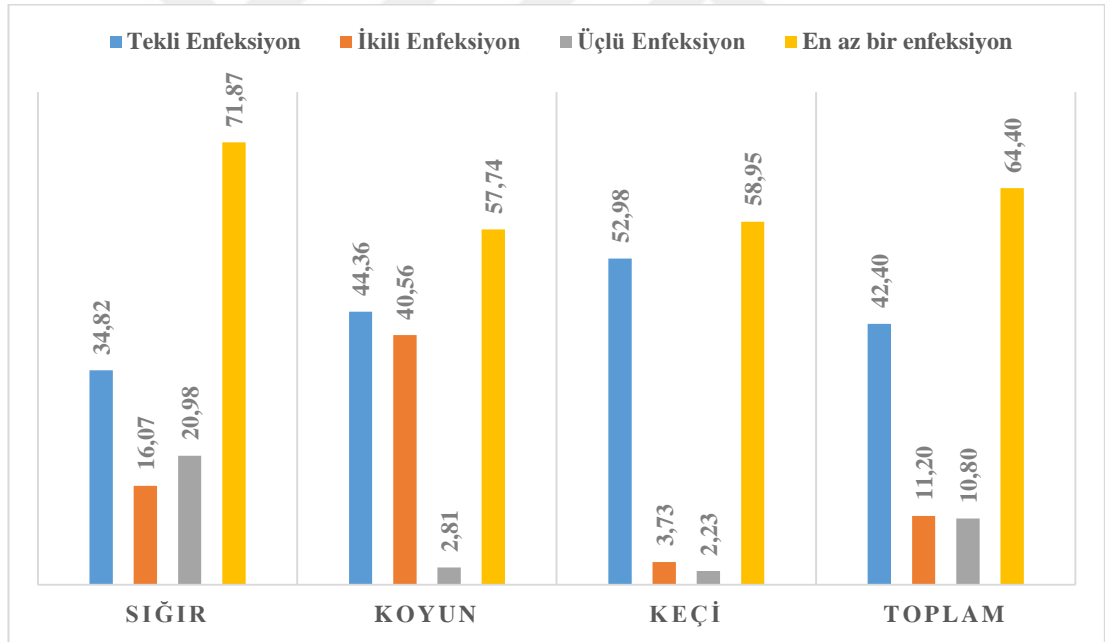
Alınan tüm örneklerin (sığır, koyun ve keçi) %42,40'ı (212/500) sadece bir enfeksiyon yönünden, %11,20'si (56/500) ikili enfeksiyon yönünden ve %10,80'i (54/500) üçlü enfeksiyon yönünden seropozitif tespit edilirken, toplam örneklerin %64,40'ında (322/500) söz konusu enfeksiyonların en az birisi için antikor varlığı tespit edildi. Sonuçlara ait bilgiler Çizelge 3.2 ve Şekil 3.2 ve Şekil 3.3' de verildi.

Çizelge 3.2. Hayvan türlerine göre tekli ve çoklu BTV, SBV ve AKAV enfeksiyonlarının oranları

	Tekli Enfeksiyon + (%)			İkili Enfeksiyon + (%)			Üçlü enfeksiyon + (%)	Toplam + (%)
	BTV	SBV	AKAV	BTV/SBV	BTV/A KAV	SBV/ AKAV	BTV/SBV/AKAV	
Sığır (n= 224)	25 (11,16)	23 (10,26)	30 (13,39)	18 (8,03)	9 (4,01)	9 (4,01)	47 (20,98)	161 (71,87)
	78 (34,82)			36 (6,07)			47 (20,98)	
Koyun (n=142)	51 (35,91)	2 (1,40)	10 (7,04)	6 (4,22)	6 (4,22)	3 (2,11)	4 (2,81)	82 (57,74)
	63 (44,36)			15 (40,56)			4 (2,81))	
Keçi (n=134)	66 (49,25)	1 (0,74)	4 (2,98)	2 (1,49)	3 (2,23)	0 (0)	3 (2,23)	79 (58,95)
	71 (52,98)			5(3,73)			3 (2,23)	
Toplam (n=500)	142 (28,40)	26 (5,20)	44 (8,80)	26 (5,20)	18 (3,60)	12 (2,40)	54 (10,80)	322 (64,40)
	212 (42,40)			56 (11,20)			54 (10,80)	



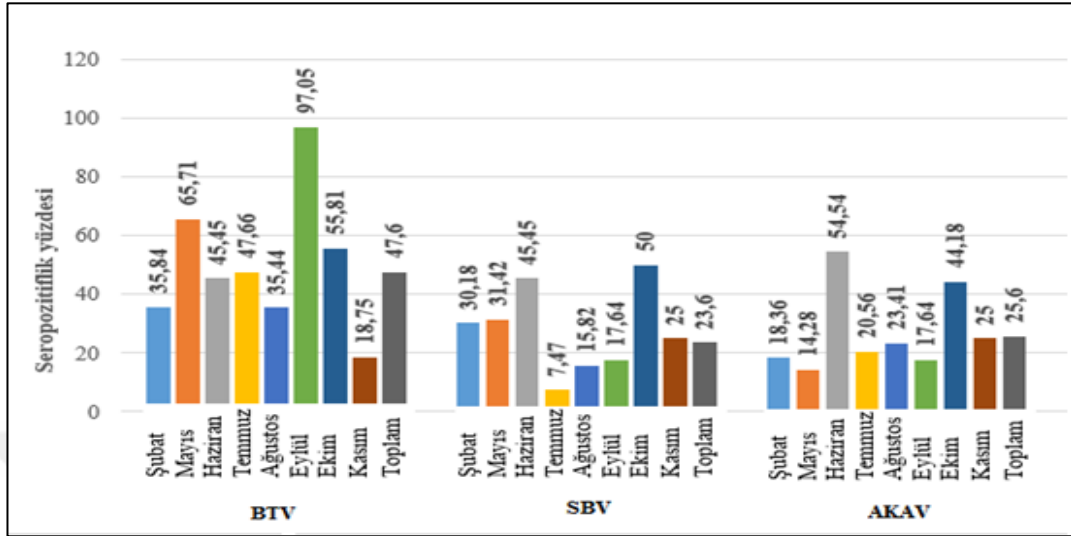
Şekil 3.2. Tüm hayvan türlerinde BTV, SBV ve AKAV enfeksiyonlarının tekli ve çoklu pozitifliği



Şekil 3.3. Hayvan türlerine göre tekli ve çoklu BTV, SBV ve AKAV enfeksiyonlarının oranları

Seropozitiflik değerlerinin örnekleme yapılan aylara göre dağılımlarına bakıldığında, BTV enfeksiyonunun seropozitiflik oranlarının en yüksek Eylül ayında olduğu (%97,05;33/34), SBV enfeksiyonu için seropozitiflik değerinin özellikle Ekim ayında en yüksek olduğu (%50; 43/86) ve AKAV için ise en yüksek seropozitiflik

değerinin Haziran ayında olduğu (%54,54;5/11) tespit edildi. Aylara göre toplanan örnekler ve seropozitiflik oranı Şekil 3.4’ de verildi.



Şekil 3.4. Toplam örneklerde aylara göre % seropozitiflik oranları

3.2. *Culicoideslerin* Tür ve Cinsiyet Tayini

Tür ve cinsiyet tayini sonucu 15813 adet dişi ve 13110 erkek olmak üzere toplam 28923 *Culicoides* toplandı ve 11 farklı tür tespit edildi. Baskın tür olarak *C.schultzei* kompleks bulundu. *Culicoides*lere ait bilgiler Çizelge 3.3’de belirtildi.

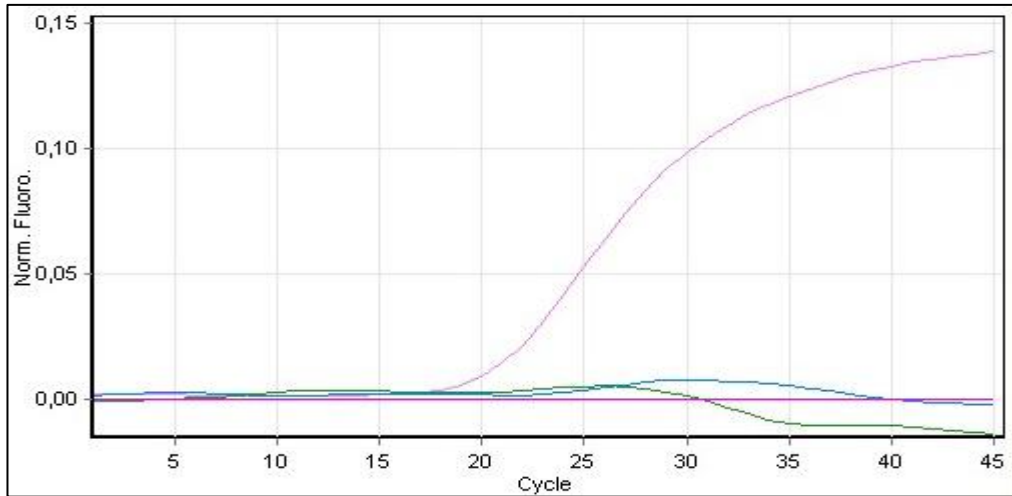
Çizelge 3.3. Toplanan *Culicoideslerin* tür ve sayıları

Toplanan <i>Culicoides</i> Türleri	Dişi (♀)	Erkek (♂)	Toplam
<i>C.schultzei</i> komp.	14446	12960	27406
<i>C.imicola</i>	1101	115	1216
<i>C.longipennis</i>	109	21	130
<i>C.badooshennis</i>	41	1	42
<i>C.obsoletus</i> komp.	33	2	35
<i>C.circumscriptus</i>	30	1	31
<i>Culicoides</i> spp.	24	7	31
<i>C.gejgelensis</i>	15	1	16
<i>C.maritimus</i>	11	1	12
<i>C.subfafascipennis</i>	3	-	3
<i>C.nubeculosus</i> komp.	-	1	1
Toplam	15813	13110	28923

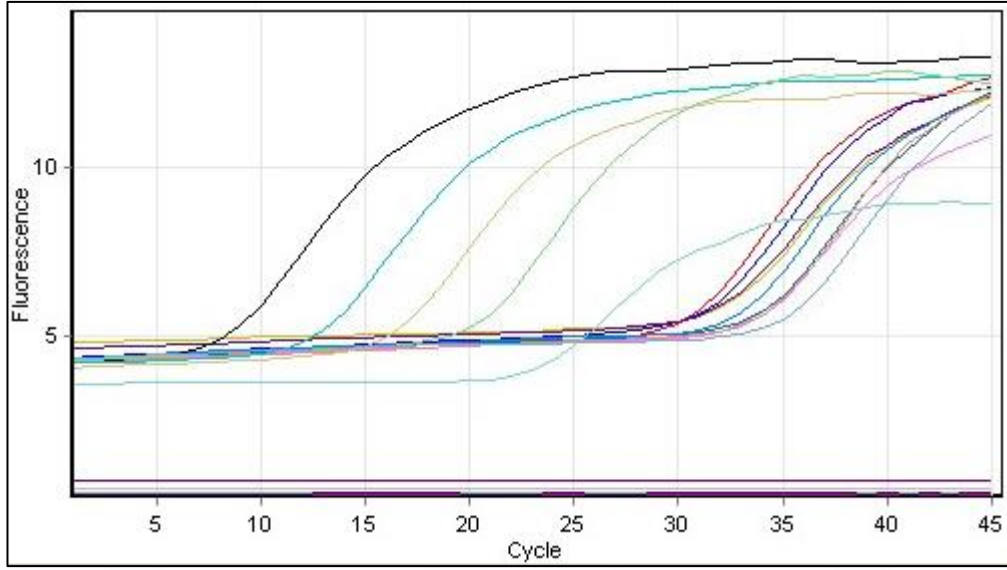
3.3. Virolojik Kontrol Sonuçları

3.3.1. Real Time RT-PCR Sonuçları

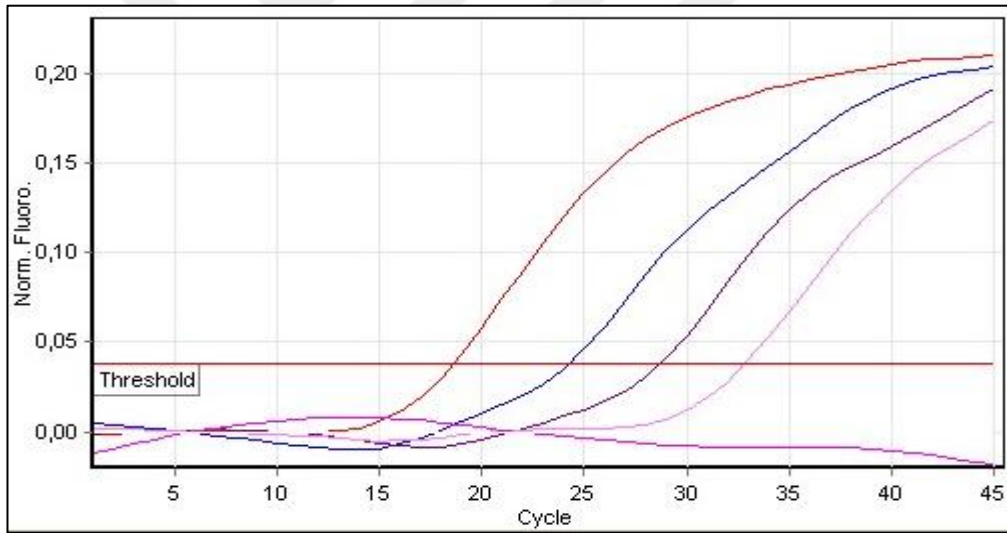
BTV, SBV ve AKAV enfeksiyonları için viral nükleik asit tespiti amacıyla Real time RT-PCR reaksiyonuna alınan toplam 495 lökosit (238 sığır, 119 koyun, 138 keçi) örneğinden BTV yönünden herhangi bir pozitifliğe rastlanmazken, koyunlardan virolojik kontrol amacıyla alınan örneklerin % 13,11'inde (16/122) ve keçilerden alınan örneklerin ise % 13,33'ünde (26/195) SBV nükleik asit varlığı tespit edildi. Koyunlarda pozitif bulunan tüm örneklerin lökosit örneği olduğu, keçilerde ise pozitif bulunan 26 örneğin 24'ünün lökosit, 2'sinin ise vajinal swap örneği olduğu belirlendi. Alınan tüm örnekler dikkate alındığında ise, %7,01 (42/599) oranında SBV yönünden pozitiflik tespit edildi (Ct değeri 17-24). Sığırlardan virolojik kontrol amacıyla alınan örneklerin % 2,12'sinde (6/282) ve koyunlardan alınan örneklerin %4,09'unda (5/122) AKAV nükleik asit varlığı tespit edildi. Alınan tüm örnekler dikkate alındığında ise, %1,83 (11/599) oranında AKAV yönünden pozitiflik belirlendi (Ct değeri 19-33). Ayrıca toplanan *Culicoides*lerden yapılan havuzların hiç birinde BTV ve SBV yönünden pozitiflik tespit edilmezken, *C.schultzei* ve *C.longipennis* havuzları AKAV yönünden pozitif olarak bulundu. Virolojik kontrol sonuçlarına ait detaylı bilgi Çizelge 3.4'de verildi.



Şekil 3.5. BTV Real Time PCR görüntüsü



Şekil 3.6. SBV Real Time PCR görüntüsü



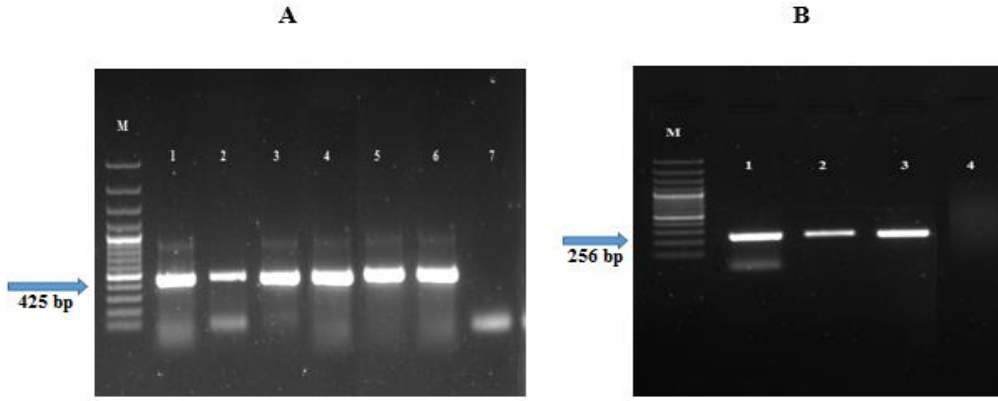
Şekil 3.7. AKAV Real Time PCR görüntüsü

Çizelge 3.4. Materyal sağlanan hayvan türü ve yerleşim yerlerine göre Real Time PCR sonuçları

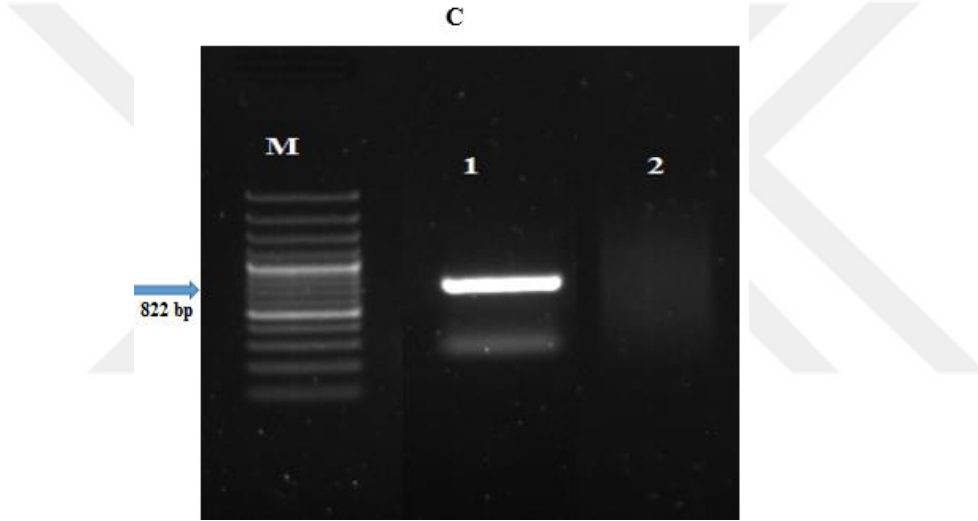
İlçe	Hayvan Türü	Virolojik kontrol sonuçları					
		BTV		SBV		AKAV	
		(+)	(%)	(+)	(%)	(+)	(%)
Altınözü	Sığır	-	-	-	-	-	-
	Koyun	-	-	15/41	36,58	5/41	12,19
	Keçi	-	-	24 /102	20,86	-	-
Antakya	Sığır	-	-	-	-	5/129	3,87
	Koyun	-	-	1/54	1,85	-	-
	Keçi	-	-	-	-	-	-
Kırıkhan	Sığır	-	-	-	-	-	-
	Koyun	-	-	-	-	-	-
	Keçi	-	-	2/23	8,69	-	-
Samandağ	Sığır	-	-	-	-	1/18	5,55
	Koyun	-	-	-	-	-	-
	Keçi	-	-	-	-	-	-
Yayladağı	Sığır	-	-	-	-	-	-
	Koyun	-	-	-	-	-	-
	Keçi	-	-	-	-	-	-
Hassa	Sığır	-	-	-	-	-	-
	Koyun	-	-	-	-	-	-
	Keçi	-	-	-	-	-	-
Toplam	Sığır	0/382	0	0/382	0	6/282	2,12
	Koyun	0/122	0	16/122	13,11	5/ 122	4,09
	Keçi	0/195	0	26/195	13,33	0/195	0
	Genel Toplam	0/599	0	42/599	7,01	11/599	1,83

3.3.2. Konvansiyonel RT-PCR Sonuçları

Real time RT-PCR ile AKAV yönünden pozitif tespit edilen 11 lökosit (6 sığır, 5 koyun), *C.schultzei* ve *C.longipennis* ile yapılan havuz örnekleri AKAV S-segmentine yönelik spesifik primerlerle yapılan konvansiyonel nested RT-PCR ile pozitif olarak tespit edildi. Oluşan amplikonlara ait agaroz jel görüntüleri Şekil 3.8 A'da gösterildi. Real time RT-PCR ile SBV yönünden pozitif tespit edilen 40 lökosit (16 koyun ve 24 keçi) ve 2 swap (2 keçi) örneği olmak üzere toplam 42 örnek SBV S- segmentine yönelik spesifik primerlerle yapılan konvansiyonel RT-PCR ile pozitif olarak tespit edildi. Oluşan amplikonlara ait agaroz jel görüntüleri Şekil 3.8 B'de verildi. BTV kontrol virusu ile yapılan konvansiyonel RT-PCR sonucu oluşan amplikonlara ait agaroz jel görüntüsü Şekil 3.9'da verildi.



Şekil 3.8. AKAV nested PCR ve SBV onestep-RT-PCR sonucu jel görüntüleri **A.** AKAV Nested PCR M: DNA merdiveni (100 bp) 1, 2,3,4 ve 5: Pozitif Örnekler, 6: Pozitif Kontrol, 7: Negatif Kontrol **B.** SBV Onestep RT-PCR M: DNA merdiveni (100 bp), 1 ve 2: Pozitif örnekler, 3: Pozitif Kontrol 4: Negatif Kontrol



Şekil 3.9. BTV onestep-RT-PCR sonucu jel görüntüsü
M: DNA merdiveni (100 bp), 1:Pozitif Kontrol, 2: Negatif Kontrol

3.3.3. Dizin Analizi ve Filogenetik Analiz Sonuçları

Konvansiyonel RT-PCR ile AKAV yönünden pozitif olarak belirlenen örneklerden iyi ürün veren 17 örnek (11 lökosit ve 6 *Culicoides* havuzu) ve SBV yönünden 17 örnek (15 lökosit ve 2 vajinal swap) dizin analizine alındı; daha sonra AKAV ve SBV dizinlerinin GenBankasına kayıtları yapıldı ve kabul numaraları alındı. GenBankasına girilen örneklere ait bilgiler Çizelge 3.5 ve Çizelge 3.6'da verildi.

Çizelge 3.5. AKAV yönünden dizin analizi yapılan örneklere ait bilgiler

No	Dizin/Kod	İlçe	Tür	Materyal	Ay/Yıl	Accession No	Genogrup
1	ANT-S47LOK-TR2015	Antakya	Sığır	Lökosit	08/2015	MG595758	II
2	SDG-S114LOK-TR2015	Samandağ	Sığır	Lökosit	10/2015	MG595759	II
3	ANT-S174LOK-TR2016	Antakya	Sığır	Lökosit	12/2016	MG595760	II
4	ANT-S175LOK-TR2016	Antakya	Sığır	Lökosit	12/2016	MG595761	II
5	CYR-S230LOK-TR2017	Antakya	Sığır	Lökosit	10/2017	MG595762	II
6	CYR-S235LOK-TR2017	Antakya	Sığır	Lökosit	10/2017	MG595763	II
7	ALT-1KLOK-TR2015	Altınözü	Koyun	Lökosit	08/2015	MG595764	Ib
8	ALT-6KLOK-TR2015	Altınözü	Koyun	Lökosit	08/2015	MG595765	II
9	ALT-10KLOK-TR2015	Altınözü	Koyun	Lökosit	08/2015	MG595766	II
10	ALT-3CKLOK-TR2016	Altınözü	Koyun	Lökosit	01/2016	MG595767	II
11	ALT-6CKLOK-TR2016	Altınözü	Koyun	Lökosit	01/2016	MG595768	II
12	KRK-Cs34G-TR2015	Kırıkhan	C.schultzei	C.schultzei	10/2015	MG595769	Ib
13	KRK-Cs34F-TR2015	Kırıkhan	C.schultzei	C.schultzei	10/2015	MG595770	Ib
14	KRK-Cs34I-TR2015	Kırıkhan	C.schultzei	C.schultzei	10/2015	MG595771	II
15	KRK-Cs34E-TR2015	Kırıkhan	C.schultzei	C.schultzei	10/2015	MG595772	II
16	KRK-Cs34J-TR2015	Kırıkhan	C.schultzei	C.schultzei	10/2015	MG595773	II
17	ANT-CIng21-TR2015	Antakya	C.longipennis	C.longipennis	08/2015	MG595774	II

Çizelge 3.6. SBV yönünden dizin analizi yapılan örneklere ait bilgiler

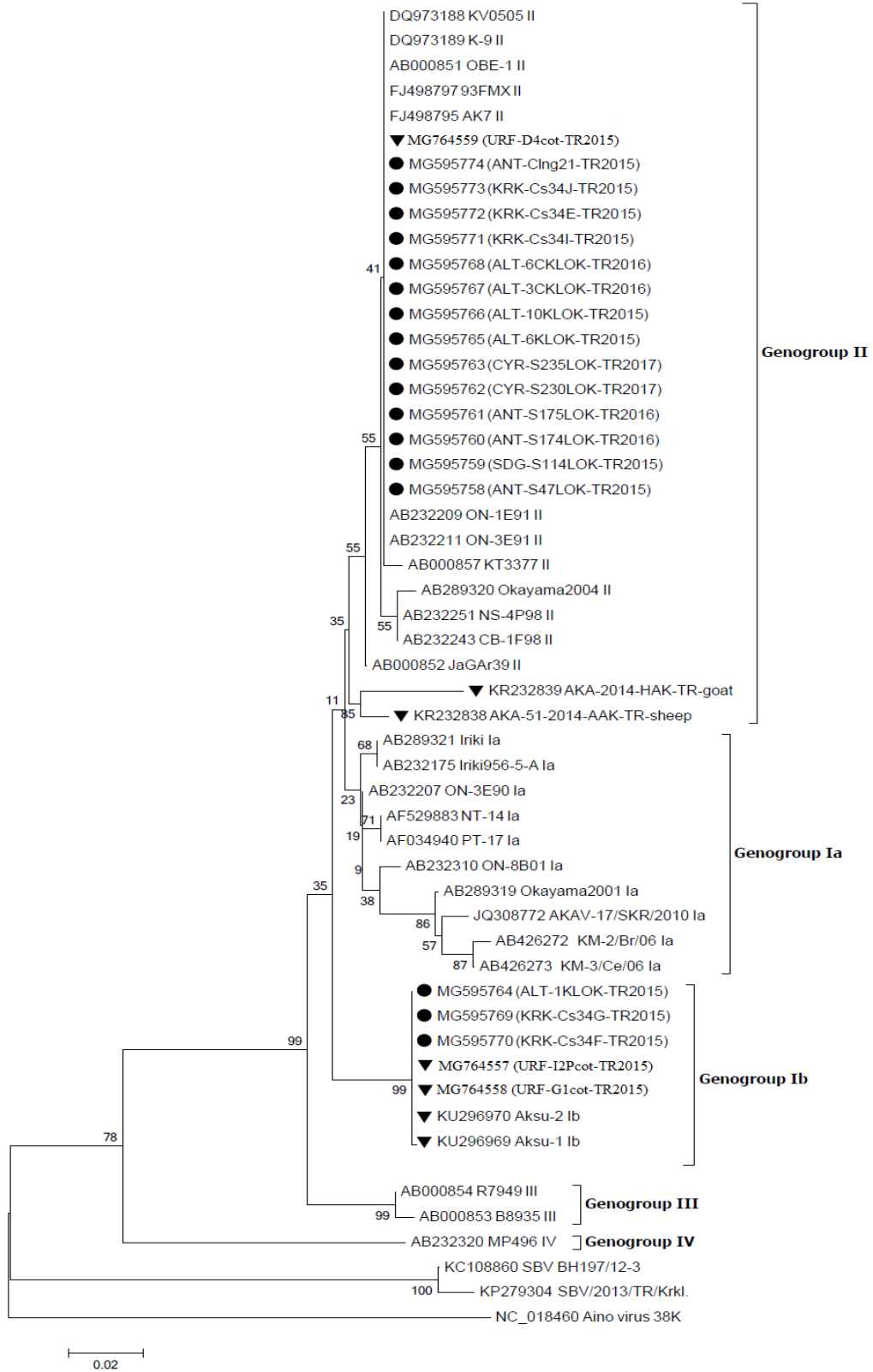
No	Dizin/Kod	İlçe	Tür	Materyal	Ay/Yıl	Accession No
1	HTY-1CK-LOK-2016	Antakya	Koyun	Lökosit	01/2016	KX609698
2	HTY-2CK-LOK-2016	Antakya	Koyun	Lökosit	01/2016	KX609699
3	HTY-3CK-LOK-2016	Antakya	Koyun	Lökosit	01/2016	KX590714
4	HTY-4CK-LOK-2016	Antakya	Koyun	Lökosit	01/2016	KX590715
5	HTY-6CK-LOK-2016	Antakya	Koyun	Lökosit	01/2016	KX609700
6	HTY-7CK-LOK-2016	Antakya	Koyun	Lökosit	01/2016	KX609701
7	HTY-8CK-LOK-2016	Antakya	Koyun	Lökosit	01/2016	KX609702
8	HTY-9CK-LOK-2016	Antakya	Koyun	Lökosit	01/2016	KX609703
9	HTY-10CK-LOK-2016	Antakya	Koyun	Lökosit	01/2016	KX609704
10	ALT-61GLOK-TR2015	Altınözü	Keçi	Lökosit	08/2015	MG640109
11	ALT-62GLOK-TR2015	Altınözü	Keçi	Lökosit	08/2015	MG640110
12	KRK-34VS-TR2016	Kırıkhan	Keçi	Vajinal Swap	03/2016	MG640111
13	KRK-37VS-TR2016	Kırıkhan	Keçi	Vajinal Swap	03/2016	MG640112
14	ALT-2GLOK-TR2015	Altınözü	Keçi	Lökosit	07/2015	MG640113
15	ALT-12GLOK-TR2016	Altınözü	Keçi	Lökosit	07/2016	MG640114
16	ALT-11GLOK-TR2016	Altınözü	Keçi	Lökosit	07/2016	MG640115
17	ALT-6GLOK-TR2015	Altınözü	Keçi	Lökosit	07/2015	MG640116

Bu çalışmada elde edilen 17 AKAV'ın S segmentine yönelik yapılan kısmi dizin analizi sonucu elde edilen virusların üçünün genogrup Ib'de, 14'ünün ise genogrup II'de olduğu belirlendi. Bu çalışmada elde edilen genogrup II'lerin kendi aralarında karşılaştırılması durumunda, %100 oranında benzer oldukları ve herhangi bir nükleotid değişimi olmadığı tespit edildi. Genogrup II'de yer alan dizinlerin Japonya'da tespit edilen (Kurogi ve ark., 1976) OBE-1 suşuna %99,3 oranında yakın olduğu görüldü. Bu çalışmada tespit edilen genogrup Ib'lerin kendi aralarında karşılaştırmaları durumunda, aynı şekilde %100 oranında benzer oldukları tespit edildi. Genogrup Ib'lerin daha önce Türkiye'de tespit edilen (Şevik, 2017b) aynı gruptaki viruslar ile %99,3-99,5 oranında benzer oldukları bulundu. Ayrıca bu çalışmada tespit edilen genogrup Ib'lerin İsrail'de tespit edilen genogrup Ib ile benzerliği %96,7 oranında saptandı. Bu çalışmada tespit edilen genogrup II ile genogrup Ib'lerin benzerlik oranları ise % 95,5 olarak bulundu. Yine bu çalışmada tespit edilen genogrup II ve genogrup Ib'lerin genogrup Ia'da yer alan referenz suş olan İriki suş ile sırasıyla %97,2 ve %95 oranında benzer oldukları tespit edildi.

Bu çalışmada tespit edilen SBV'lerin hem kendi aralarında, hem de daha önce ülkemiz ve farklı ülkelerde tespit edilen SBV'ler ile S segmenti kısmi dizin analizlerinin karşılaştırılmasında %100 oranında benzer oldukları, herhangi bir nükleotid ve aminoasit değişimi olmadığı tespit edildi. Ancak bu çalışmada tespit edilen SBV'lerin aynı aileden olan SATV, SHAV, AKAV ve Aino virus ile S segmenti kısmi dizin analizlerinin karşılaştırılması durumunda benzerlikleri sırasıyla %91,2, %94,9, %74,2 ve %76,0 olarak bulundu.

Bu çalışmada elde edilen AKAV ve SBV örneklerinin GenBankasında yer alan diğer AKAV ve SBV ile yakınlıklarını göstermek amacıyla çizilen filogenetik ağaçlar Şekil 3.10 ve Şekil 3.14'de gösterildi.

GenBankasında yer alan diğer AKAV ve SBV dizinleri ile eşleşen örnekler daha sonra, hem kendi aralarında, hem de ülkemiz ve dünyadaki diğer AKAV ve SBV'ler ile nükleotid/ amino asit düzeyinde karşılaştırılarak benzerlik/farklılıkları Şekil 3.11, Şekil 3.12, Şekil 3.13, Şekil 3.15, Şekil 3.16'da gösterildi.



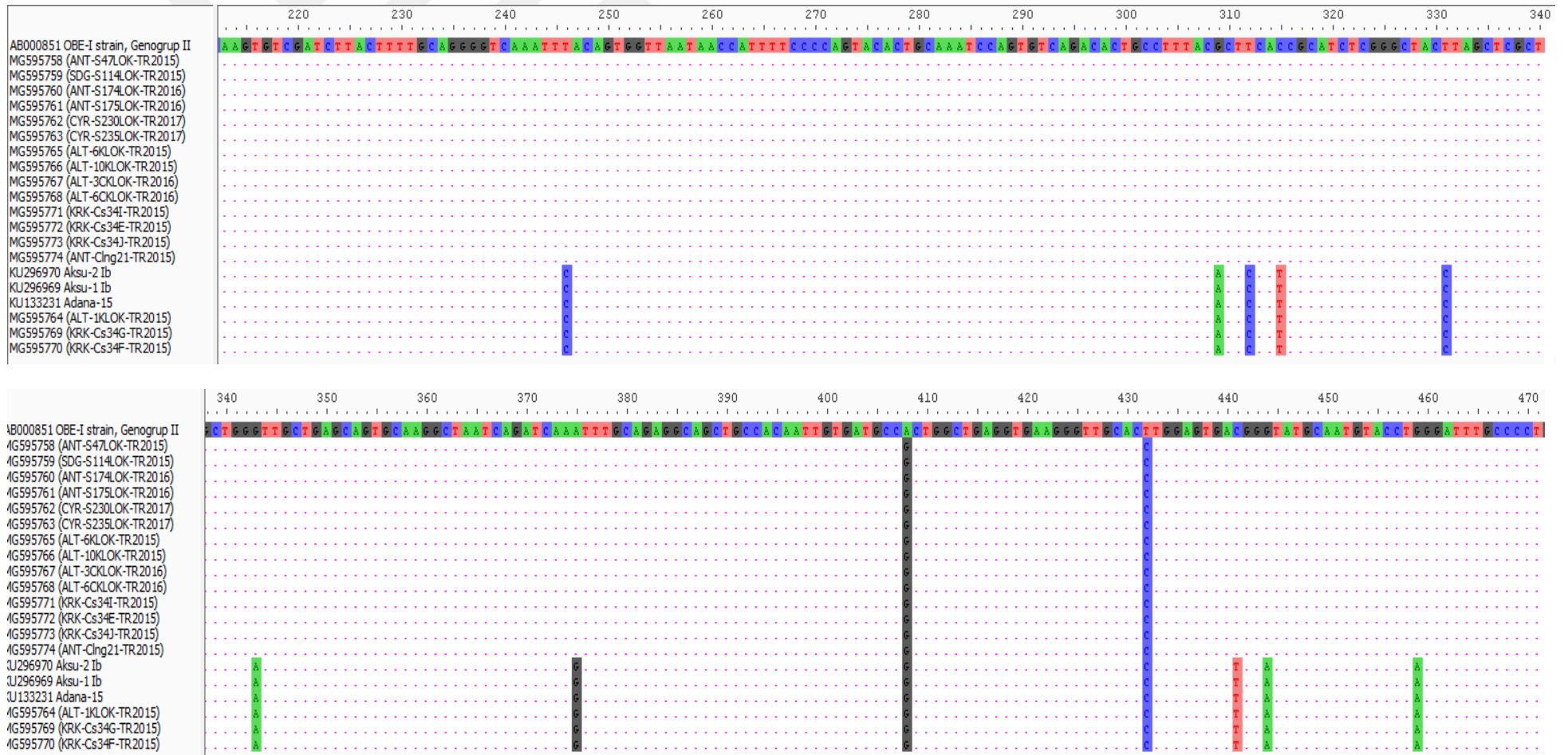
●:Bu çalışmada elde edilen dizinler ▼: Daha önceki çalışmalarda Türkiye’de tespit edilen AKAV dizinleri

Şekil 3.10. AKAV S segmenti yönünden yapılan filoetik analiz

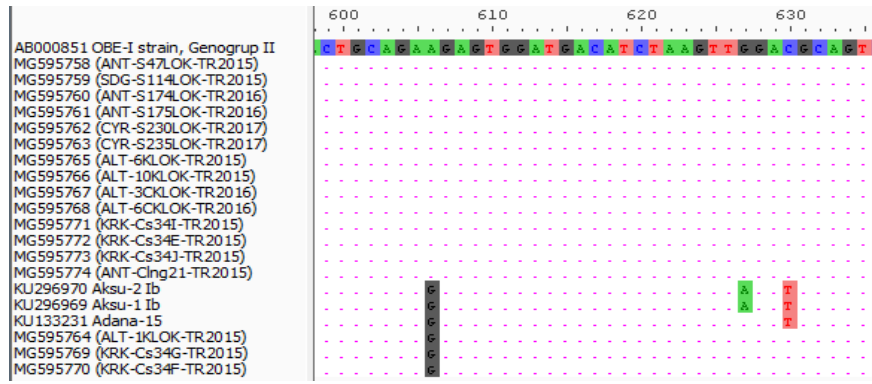
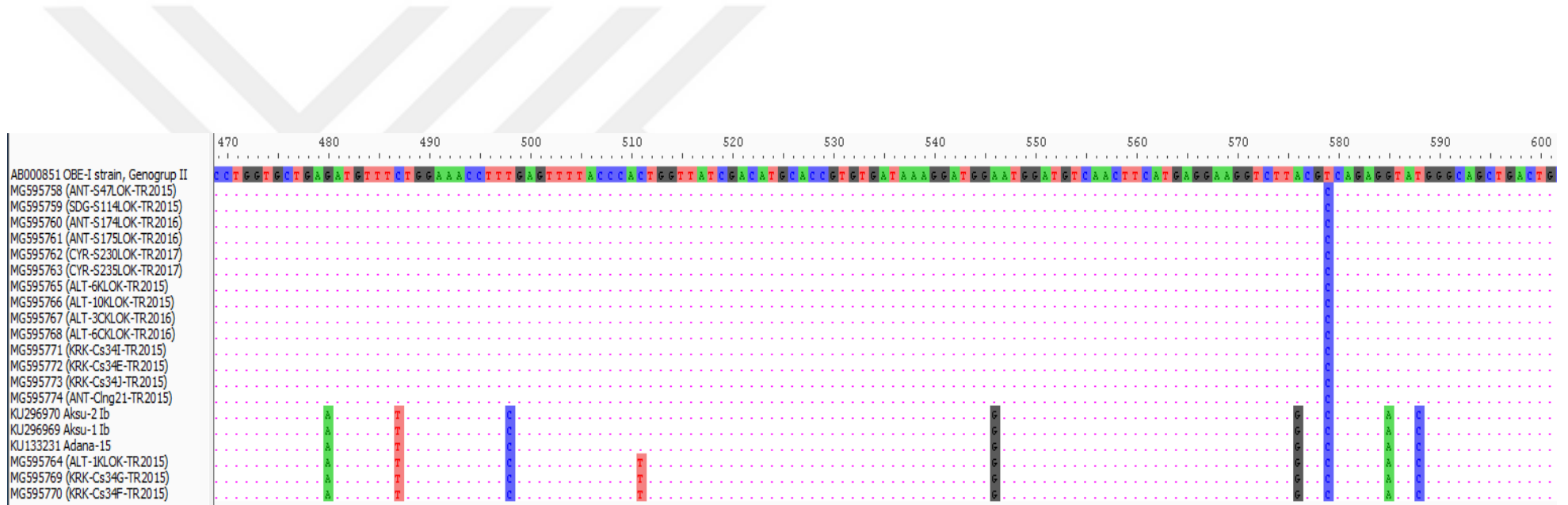
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
Genogrup II	1. AB000851		99.3	99.3	99.3	99.3	99.3	99.3	99.3	99.3	99.3	99.3	99.3	99.3	99.3	96.2	94.6	94.6	94.8	94.8	94.8	94.8	96.9	
*Genogrup II	2. MG595758	99.3		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	96.9	95.3	95.3	95.5	95.5	95.5	95.5	97.2	
*Genogrup II	3. MG595759	99.3	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	96.9	95.3	95.3	95.5	95.5	95.5	95.5	97.2	
*Genogrup II	4. MG595760	99.3	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	96.9	95.3	95.3	95.5	95.5	95.5	95.5	97.2	
*Genogrup II	5. MG595761	99.3	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	96.9	95.3	95.3	95.5	95.5	95.5	95.5	97.2	
*Genogrup II	6. MG595762	99.3	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	96.9	95.3	95.3	95.5	95.5	95.5	95.5	97.2	
*Genogrup II	7. MG595763	99.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	96.9	95.3	95.3	95.5	95.5	95.5	95.5	97.2	
*Genogrup II	8. MG595765	99.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	96.9	95.3	95.3	95.5	95.5	95.5	95.5	97.2	
*Genogrup II	9. MG595766	99.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	96.9	95.3	95.3	95.5	95.5	95.5	95.5	97.2	
*Genogrup II	10. MG595767	99.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	96.9	95.3	95.3	95.5	95.5	95.5	95.5	97.2	
*Genogrup II	11. MG595768	99.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	96.9	95.3	95.3	95.5	95.5	95.5	95.5	97.2	
*Genogrup II	12. MG595771	99.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	96.9	95.3	95.3	95.5	95.5	95.5	95.5	97.2	
*Genogrup II	13. MG595772	99.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	96.9	95.3	95.3	95.5	95.5	95.5	95.5	97.2	
*Genogrup II	14. MG595773	99.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		96.9	95.3	95.3	95.5	95.5	95.5	95.5	97.2	
*Genogrup II	15. MG595774	99.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		96.9	95.3	95.3	95.5	95.5	95.5	97.2	
Genogrup Ib	16. AY378155	96.2	96.9	96.9	96.9	96.9	96.9	96.9	96.9	96.9	96.9	96.9	96.9	96.9	96.9	96.9		96.9	96.9	97.2	96.7	96.7	96.7	96.5
Genogrup Ib	17. KU296970	94.6	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	96.9		100.0	99.8	99.3	99.3	99.3	94.8	
Genogrup Ib	18. KU296969	94.6	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	95.3	96.9	100.0		99.8	99.3	99.3	99.3	94.8	
Genogrup Ib	19. KU133231	94.8	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	97.2	99.8	99.8		99.5	99.5	99.5	95.0	
*Genogrup Ib	20. MG595764	94.8	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	96.7	99.3	99.3	99.5		100.0	100.0	95.0	
*Genogrup Ib	21. MG595769	94.8	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	96.7	99.3	99.3	99.5	100.0		100.0	95.0	
*Genogrup Ib	22. MG595770	94.8	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	96.7	99.3	99.3	99.5	100.0	100.0		95.0	
Genogrup Ia	23. AB289321	96.9	97.2	97.2	97.2	97.2	97.2	97.2	97.2	97.2	97.2	97.2	97.2	97.2	97.2	96.5	94.8	94.8	95.0	95.0	95.0	95.0		

*: Bu çalışmada tespit edilen AKAV Örnekleri

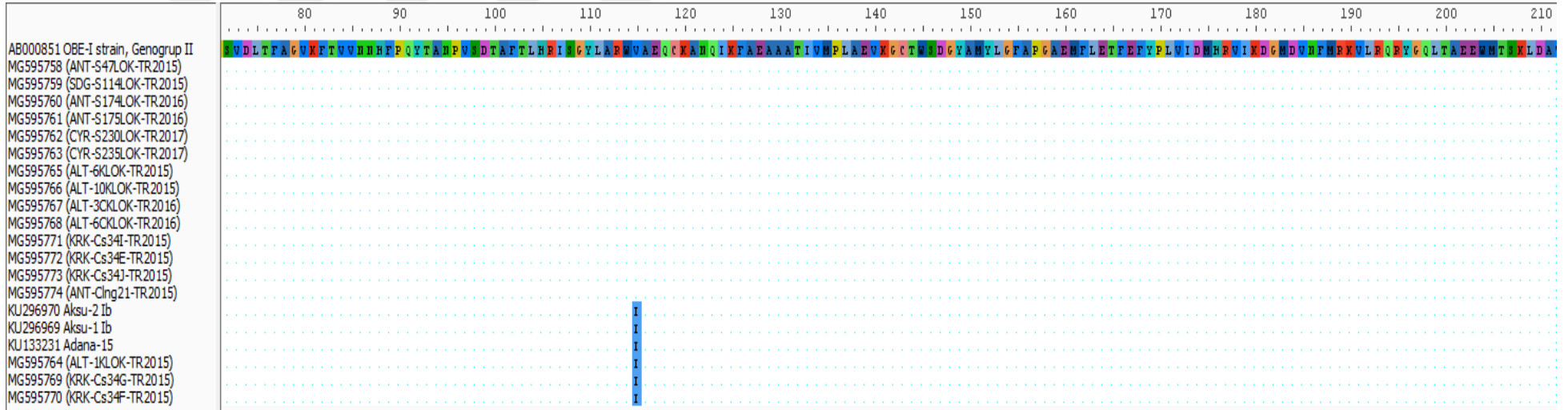
Şekil 3.11. AKAV genogrup II, genogrup Ib ve genogrup Ia arasındaki benzerlik oranları



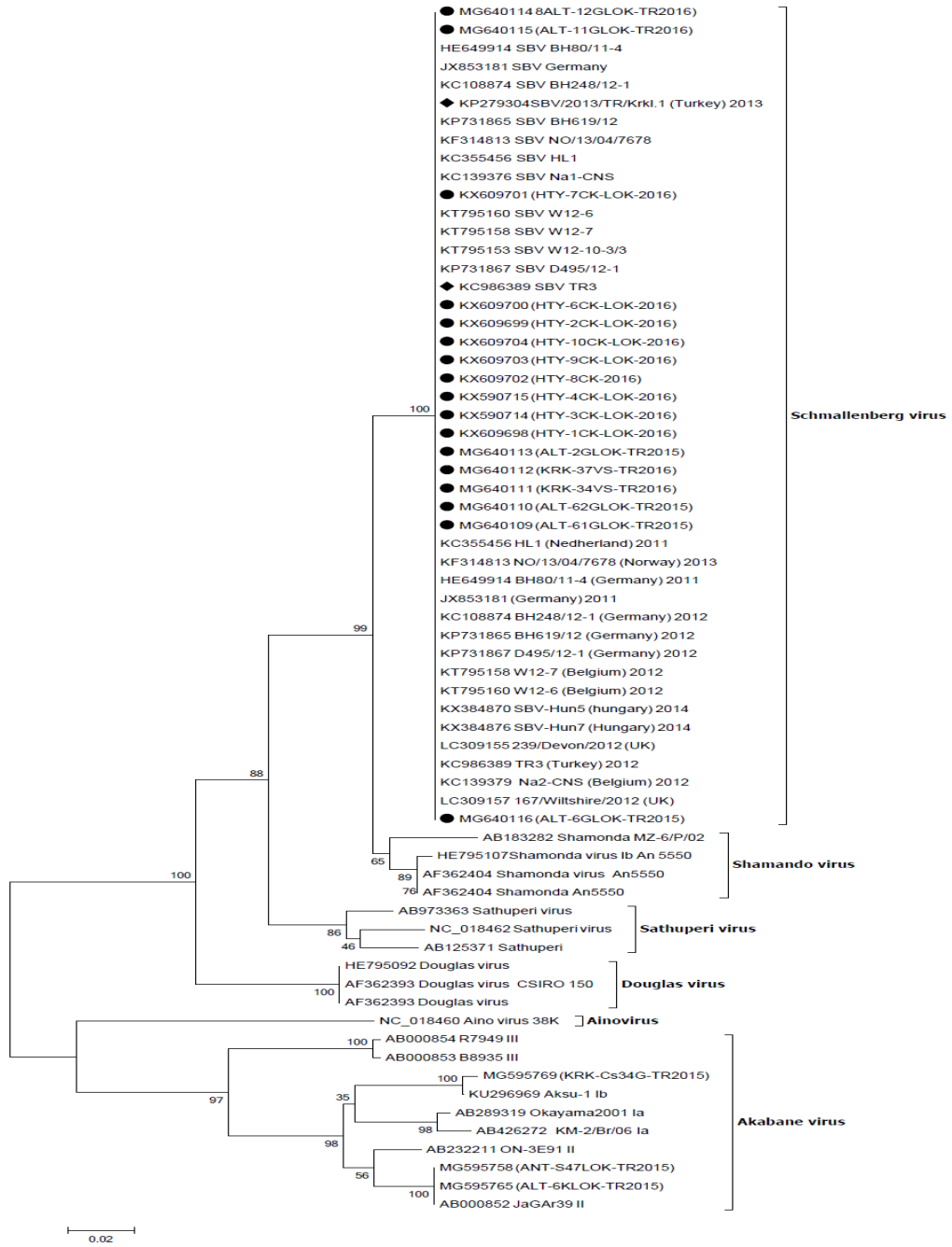
Şekil 3.12. AKAV S segmenti yönünden yapılan dizin analizi sonucu genogruplar arasındaki nükleotid değişimleri.



Şekil 3.12. Devam



Şekil 3.13. AKAV S segmentine yönelik yapılan dizin analizi sonucu genogrup II ve genogrup Ib arasındaki aminoasit değişimleri.



●: Bu çalışmada elde edilen dizinler ◆: Daha önceki çalışmalarda Türkiye’de tespit edilen SBV dizinleri.

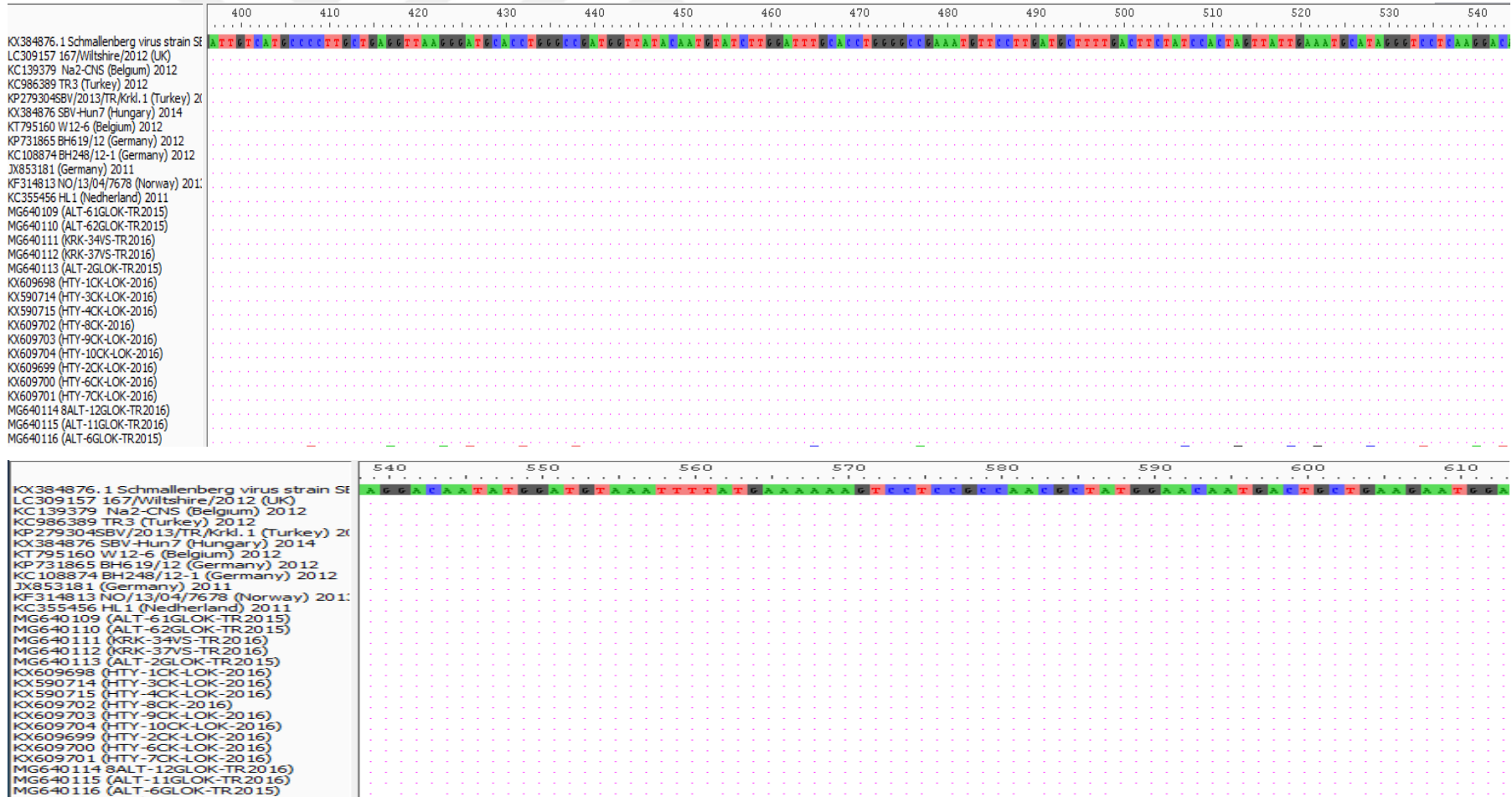
Şekil 3.14. SBV S segmenti yönünden yapılan filojetik analiz.



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26			
SBV (TR)	1. KC986389		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0		
SBV (TR)	2. KP279304	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
SBV (Hum)	3. KX384876	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
SBV (Bel)	4. KT795160	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
SBV (Ger)	5. KP731865	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	6. MG640109	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	7. MG640110	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	8. MG640111	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	9. MG640112	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	10. MG640113	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	11. KX609698	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	12. KX590714	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	13. KX590715	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	14. KX609702	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	15. KX609703	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	16. KX609704	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	17. KX609699	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	18. KX609700	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	19. KX609701	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	20. MG640114	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	91.2	94.9	74.2	76.0	
*SBV	21. MG640115	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	91.2	94.9	74.2	76.0
*SBV	22. MG640116	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		91.2	94.9	74.2	76.0
SATV	23. AB973363	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	76.0
SHAV	24. AB183282	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	94.9	76.0
AKAV	25. AB000852	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	74.2	76.0
Aino	26. NC_018...	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0

*: Bu çalışmada tespit edilen SBV örnekleri

Şekil 3.15. Çalışmada tespit edilen SBV'ler ile diğer SBV ve Orthobunyaviruslar arasındaki benzerlik oranları



Şekil 3.16. SBV S segmentine yönelik yapılan dizin analizi sonucu nükleotid benzerlikleri

Bu çalışmada elde edilen genogrup II dizinleri kendilerine en yakın (%99,3) olarak bulunan referenz OBE-1 suşu ile karşılaştırıldığında, S segmenti üzerinde 408. nt' de A → G, 432. nt'de T → C ve 579. nt' de T → C şeklinde olmak üzere üç nükleotid değişimi olduğu tespit edildi. Bu çalışmada elde edilen genogrup Ib dizinlerinin, Türkiye'de daha önce tespit edilen genogrup Ib'ler ile karşılaştırılması durumunda S segmenti üzerinde 511. nt' de C → T, 627. nt' de A → G ve 631. nt' de T → G şeklinde değişimlerin olduğu görüldü. Genogrup II ve genogrup Ib'nin karşılaştırılmasında S segmenti üzerinde meydana gelen nükleotid değişimleri Çizelge 3.7'de verildi.

Bu çalışmada tespit edilen genogrup II ve genogrup Ib aminoasit düzeyinde karşılaştırıldığında ise, 115. aa' de Valin (V) → İzoleusine (I) dönüştüğü görüldü. Bu değişime S segmenti üzerindeki 343. nt' in G → A' ya dönüşümünün neden olduğu tespit edildi.

Çizelge 3.7. AKAV S segmenti kısmi dizin analizinde genogrup II ve genogrup Ib'lerin karşılaştırılmasında S segmenti üzerindeki nükleotid değişimleri

S Segmeti üzerindeki pozisyonu	Nükleotid değişimi	S Segmeti üzerindeki pozisyonu	Nükleotid değişimi
246. nt	T → C	480. nt	G → A
309. nt	G → A	486. nt	C → T
312. nt	T → C	498. nt	T → C
315. nt	C → T	512. nt	C → T
331. nt	T → C	546. nt	A → G
343. nt*	G → A	576. nt	A → G
375. nt	A → G	585. nt	G → A
441. nt	C → T	588. nt	T → C
444 .nt	G → A	606. nt	A → G
459. nt	G → A		

*: Aminoasit değişimine neden olan nükleotid

4. TARTIŞMA

Culicoidesler tarafından taşınan arboviruslardan olan BTV, AKAV ve son yıllarda özellikle Avrupa’da salgınlara neden olan SBV koyun, keçi ve sığırlarda meydana getirdikleri semptomlara bağlı olarak mortalite, abortlar, anomalili yavru doğumları gibi kayıpların yanı sıra, söz konusu enfeksiyonların endemik olduğu bölgelerde hayvan hareketleri, embriyo, semen ve diğer hayvansal ürünlerin kullanımının sınırlandırılması gibi faktörler nedeniyle ciddi ekonomik kayıpları beraberinde getirmektedirler.

Arthropod vektörlerle bulaşan hastalıkların görülmesinde küresel ısınma, mevsimsel değişiklikler, rüzgar, sulak alanların varlığı gibi ekosistemle ilgili faktörlerin yanısıra, legal/illegal viremik çiftlik ve vahşi hayvanların transportu, lisans almamış aşuların sahada kullanımı, insanların seyahatlerinin artışı gibi ticari/sosyal ve bunun yanı sıra askeri aktiviteler de önemli rol oynamaktadır (De Clercq ve ark., 2009; Sellers, 1992 ve Van Rijn ve ark., 2012).

Bu enfeksiyonların epidemiyolojisinin il/bölge/ülke düzeyinde araştırılması, moleküler teknikler ile hızlı ve güvenilir tanısının yapılabilmesi, serotip/genotip tayini söz konusu enfeksiyonların kontrolünde etkili stratejilerin geliştirilebilmesinde büyük önem taşımaktadır. Duyarlı hayvanlarda hastalık tespitinin yanısıra, bu hastalıklar için ana vektör olarak rol oynayan *Culicoideslerin* varlığı, yayılımı ve lokasyonunu tanımlamak için aktif izleme programları ile kombinasyonlar yapmak, özellikle salgın sırasında alınması gerekli tedbirleri zamanında yerine getirebilmek açısından önemlidir.

Türkiye’de BTV, SBV ve AKAV enfeksiyonlarının varlığına ilişkin çalışmalar bulunmasına rağmen, Hatay ili ve çevresinde bu etkenlerin varlığı, yaygınlığı, bu hastalıkları taşıdığı düşünülen vektör türleri ve dağılımları ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Hatay ili yazları sıcak, kurak ve nemli, kışları ise ılık ve yağışlı geçmektedir. Hatay ilinde var olan Asi nehri ve bu nehri besleyen ırmaklar, birçok ilçe (Altınözü, Reyhanlı, Kırkhan, Antakya ve Samandağ) sınırlarından geçerek yaklaşık

90 km sonra Akdeniz'e dökülmektedir. Bu nehrin suyunun yaz mevsiminde çok azalmasından dolayı, geçtiği yerlerde bir nevi bataklık oluşmaktadır. Bu durum söz konusu hastalıkları taşıdığı düşünülen *Culicoides* türleri için uygun bir ortam oluşturmaktadır. Ayrıca, özellikle bilinen iki önemli göçmen kuş rotasının (Doğu ve Merkez Avrupa rotaları) bu bölge üzerinde birleştiği ve Afrika'ya buradan tek rota halinde devam ettiği ve böylelikle Afrika ve Doğu Avrupa orijinli bazı arbovirusların taşıyıcı bu göçmen kuşlar ile söz konusu bölgede karışma potansiyeli olabileceği ve AKA, BT, SB viruslarının ve genetik varyantlarının kuvvetle yüksek olasılıkla tespit edilebileceği düşünülmektedir. Hatay ilinin Suriye'ye sınırı olması nedeniyle de, sınırlardan illegal hayvan girişlerine bağlı olarak kontrolsüz hayvan hareketleri nedeniyle bölge birçok enfeksiyona da açık bir konumdadır. Tüm bu iklimsel ve sosyal faktörlerin kombinasyonunun, bölgede *Culicoides* türlerinin yaşaması/çoğalması ve yayılması için uygun bir ortam yarattığı ve buna bağlı olarak söz konusu sineklerle bulaşan hastalıklar yönünden bölgenin incelenmesinin, ruminantların arboviral enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve mücadelesi açısından değerli verilere ulaşılabilmesinde yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Bu bilgiler ışığında planlanan bu çalışmada, Hatay ilinde ruminant yetiştiriciliği yapılan işletmelerde arboviral enfeksiyonlardan BTV, SBV, AKAV enfeksiyonlarının varlığı/yaygınlığının serolojik ve moleküler yöntemler ile araştırılması amaçlanmıştır. Söz konusu enfeksiyonların ortak klinik tabloları olan abort, ölü doğum ve/veya anomalili yavru doğumu olgularının görüldüğü sürülerde bulunan yakın zamanda abort, ölü doğum ve/veya anomalili yavru doğumu yapmış sığır, koyun, keçiler ve bu hayvanlar ile birlikte barındırılan sağlıklı görünümlü hayvanlardan kan serumu örnekleri alınmış ve ELISA ile kontrol edilerek enfeksiyonun seroprevalansının belirlenmesi hedeflenmiştir. Bunun yanı sıra klinik bulgulu hayvanlardan antikoagulanlı kan örnekleri, vajinal swap, ölen/aborte fötustan doku örnekleri (karaciğer, dalak, lenf yumrusu, beyin) alınarak RT-PCR yöntemleri ile viral nükleik asit varlığı yönünden araştırılması planlanmıştır. Söz konusu viruslar yönünden pozitif olarak belirlenen örneklerin dizin analizi sonrasında, bölgede sirküle olan virusların, ülkemizde ve diğer ülkelerde bulunan viruslar ile serotip/genotip düzeyinde karşılaştırılması planlanmıştır. Araştırmada ayrıca, söz konusu virusları taşıdığı

düşünülen *Culicoides* türlerinin belirlenmesi amacıyla kurulacak tuzaklardan toplanan sineklerin, tür ayrımı/yaygınlığı yönünden identifiye edilmesinden sonra, viral nükleik asit varlığı yönünden araştırılması da hedeflenmiştir.

Bu amaçla, Hatay ilinde 6 farklı ilçede yer alan, 6 ay yaşın üzerinde abort, ölü doğum ve/veya anomalili yavru doğumu olgularının görüldüğü sürülerde bulunan 224 sığır, 142 koyun ve 134 keçi olmak üzere toplam 500 hayvandan kan serum örneği alınarak BTV, SBV ve AKAV antikoları yönünden ELISA ile kontrol edilmiştir (Çizelge 2.1).

Ayrıca, söz konusu arboviral enfeksiyonlar yönünden şüpheli hayvanlardan virolojik kontrol amacıyla 495 lökosit örneği (238 sığır, 119 koyun, 138 keçi), 89 swap örneği (31 sığır, 1 koyun, 57 keçi) ile 15 doku örneği (13 sığır ve 2 koyun) olmak üzere toplam 599 örnek alınmış ve Real Time RT-PCR ile BTV, SBV ve AKAV yönünden kontrol edilmiştir (Çizelge 2.1).

Culicoides türleri tarafından taşınan arboviral enfeksiyonlardan en önemlilerinden biri olan BTV enfeksiyonu, ruminant çiftlik hayvanları endüstrisinde ciddi ekonomik kayıpların nedenlerindedir. Enfeksiyon Amerika, Afrika, Güney Asya, Kuzey Avustralya ve özellikle Güney Avrupa'da yaygındır (Erasmus, 1990 ve Parsonson, 1992). Avrupa ülkelerinde 1998 yılından bu yana değişik salgınlardan BTV-1,-2,-4,-8,-9 ve -16 izole ve identifiye edilmiştir (Baylis ve Mellor, 2001; Breard ve ark., 2004; Maan ve ark., 2009; Maclachlan, 2010; Mellor ve ark., 2008; Purse ve ark., 2005 ve Sailleau ve ark., 2014).

Türkiye'de BTV enfeksiyonu ilk defa 1944 yılında Hatay ve çevresinde bildirilmiştir (Anonim, 1980). Enfeksiyon ülkemizde 1998 yılından itibaren Güney ve Batı Anadolu başta olmak üzere, birçok ilimizde zaman zaman salgınlara neden olmaktadır. Ülkemizde son yıllarda BTV üzerine yapılmış olan çalışmalara (Albayrak ve Özan, 2010; Gür 2008; Karaoğlu ve ark., 2007; Kulaç ve ark., 2016; Özgünlük, 2003; Pestil, 2014 ve Yavru ve ark., 2009) bakıldığında, seroprevalans değerlerinin bölgelere/illere göre %24,02 ile 97.5 arasında farklılıklar gösterdiği görülmektedir.

Ülkemizde oluşan salgınlarda bugüne kadar 2, 4, 9 ve 16 serotipleri tespit edilmiştir (Mellor ve Wittman, 2002).

Bu çalışmada, hayvan türlerine göre, BTV antikollarının varlığı sığırlarda %43,30 (97/224), koyunlarda %47,18 (67/142), keçilerde %55,22 (74/134) ve örneklenen tüm hayvanlarda ise %47,60 olarak belirlenmiştir. Virolojik kontrol amacıyla alınan örneklerde ise BTV nükleik asit varlığı tespit edilememiştir (Çizelge 3.1).

Bu çalışmada BTV enfeksiyonuna karşı elde edilen seropozitifliğin, örneklenen ruminant türlerinde yüksek olduğu görülmektedir. Her ne kadar virolojik kontrol amacıyla alınan örneklerde BTV tespiti yapılmamış olsa da, hayvanlarda saptanan yüksek seropozitivite oranları, virusun yakın zamanda Hatay ilinde sirküle olduğunu ortaya koymaktadır. BTV enfeksiyonunun mevsimsel ve popülasyondaki serokonversiyona bağlı olarak zaman zaman ortaya çıkan bir hastalık olduğu dikkate alındığında, örnekleme yapılan zaman diliminde aktif BTV sirkülasyonunun olmadığı kanısına varılmıştır. BTV üzerine yapılmış olan diğer çalışmalarla birlikte değerlendirildiğinde ise, ülkemizde enfeksiyonun yüksek oranda var olduğu ve giderek arttığı, illere/bölgelere göre coğrafik yapı ve iklimsel özelliklere bağlı olarak pozitifliklerin büyük farklılıklar gösterdiği gözlenmektedir. Çalışmanın örnekleme dönemi olan Mayıs 2015-Ekim 2017 tarihleri arasında Hatay ilinde BTV varlığı virolojik olarak tespit edilememesine rağmen, ülkemizde 2017 yılının Ekim ayında Aydın'da serotip 16 ve Kasım ayında Osmaniye'de serotip 4 bildirimleri yapılmıştır. BTV enfeksiyonu açısından endemik olan ülkemizde popülasyondaki serokonversiyona bağlı olarak farklı il/bölge bazında BTV salgınlarının devam ettiği görülmektedir.

BTV genellikle koyunlarda şiddetli semptomlara neden olup, keçi ve sığırlarda asemptomatik seyretmektedir. Ancak keçi ve sığırlar BTV enfeksiyonunda virus rezervuarı olarak önemli rol oynarlar (Jimenez-Clavero, 2012). Bu çalışmada da, özellikle sığırların yanı sıra keçilerde tespit edilen yüksek seropozitivite değeri (sırasıyla %43,30 ve %55,22) dikkate değer bulunmuş, enfeksiyonun şiddetli

bulgularının görüldüğü duyarlı tür olan koyunlara bulaştırılmasında bu türlerin göz ardı edilmemesi gerekliliği ortaya konulmuştur.

Arbovirus enfeksiyonlarından biri olan AKAV enfeksiyonu Orta Doğu'da, Japonya, Kore, İsrail, Türkiye, Çin, Sudan, Kenya, Avustralya, Asya ve Amerika'da yaygın olarak görülmektedir (Alshaad ve ark., 2017; Oem ve ark., 2012a; Oem ve ark., 2014; Shin ve ark., 2009; Taylor ve Mellor, 1994 ve Wang ve ark., 2017). Ülkemizde daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda seroprevalans değerleri Güney Doğu Anadolu Bölgesinde sığırlarda %13,70 (Çabalar ve Bilge Dağalp, 2000) ve %27,98 (Özgünlük, 2003), Trakya Bölgesinde %0,14 (Karaoğlu ve ark., 2007), Karadeniz Bölgesinde sığırlarda %22 ve koyunlarda %0,50 (Albayrak ve Özcan, 2010) ve Aydın ili ve çevresinde %9,72 (Özgünlük ve ark., 2013) oranında pozitiflik tespit edilirken, Koç ve Erol (2017) 2012-2013 yılları arasında topladıkları sığır, koyun, keçi ve deve örneklerinde herhangi bir pozitiflik tespit edememişlerdir. Pestil (2014), Marmara bölgesinde yaptığı bir araştırmada koyunlarda %0,08 (1/1200) oranında pozitiflik bulmuştur. Yıldırım ve ark.(2015) Kars yöresinde yaptıkları çalışmada sığırlarda %2,13 (8/376), Şevik (2017a) 2015 yılında Akdeniz bölgesinden (Antalya, Burdur ve Isparta) topladığı koyun örneklerinde %44,9 (135/301) oranında AKAV yönünden seropozitiflik tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada, AKAV'a karşı seropozitiflik oranları, hayvan türlerine göre sığırlarda %42,41 (95/224), koyunlarda %16,19 (23/142), keçilerde %7,46 (10/134) ve tüm hayvanlar bazında ise %25,60 (128/500) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.1). Bu araştırmada yapılan moleküler çalışma sonucunda, sığırlardan virolojik kontrol amacıyla alınan örneklerin % 2,12'sinde (6/282) ve koyunlardan alınan örneklerin %4,09'unda (5/122) AKAV nükleik asit varlığı tespit edilmiştir. Alınan tüm örnekler dikkate alındığında ise %1,83 (11/599) oranında AKAV yönünden pozitiflik belirlenmiştir (Çizelge 3.4). Ayrıca toplanan *Culicoides* türlerinden yapılan havuzlarda 5 *C.schultzei* ve 1 *C.longipennis* havuzu olmak üzere 6 *Culicoides* havuzu AKAV yönünden pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Dünyada ve ülkemizde AKAV enfeksiyonu üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında, AKAV enfeksiyonunun özellikle Asya ve Orta doğu ülkelerinde yaygın olarak görüldüğü anlaşılmaktadır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda seropozitiflik oranlarının yıllara ve coğrafik bölgelere göre değişkenlik gösterdiği izlenmektedir.

AKAV enfeksiyonunun tespiti için en uygun materyalin kotiledon, plasentom, aborte fötusa ait beyin ve spinal kord olduğu belirtilmektedir. Kanda viremi süresi (1-5 gün) kısa olduğundan virus tespit şansı düşmektedir. Bu çalışmada örnekleme zamanında aborte fötusa ulaşamadığından, yeni abort yapmış annelerden kan örneği alınmış ve pozitif olarak belirlenmiştir. Viremi döneminin kısa oluşu göz önünde tutularak, tespit edilen pozitiflik virusun örnekleme döneminde aktif olarak sirküle oluşunun bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Elde edilen sonuçlara göre AKAV enfeksiyonunun, bölgede sığır ve koyunlarda yaygın olarak görülen abort/ölü doğum/anomalili yavru doğumu olgularında etiyolojik ajan olarak rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Ülkemizde AKAV enfeksiyonunun varlığı yapılan serolojik ve patolojik çalışmalarla ortaya konmuştur ancak moleküler tespiti ve tiplendirilmesine yönelik az sayıda çalışma bulunmaktadır. Oğuzoğlu ve ark. (2015) Hatay ve Aydın'dan alınan keçi ve koyun örneklerinde nested PCR ile AKAV pozitif bulmuşlar ve yapılan dizin analizi sonucunda tespit edilen virusların genogrup II'ye yakın olduğunu bildirmişlerdir. Alkan ve ark. (2016) 2015 yılında Güney Doğu Anadolu bölgesinde (Şanlıurfa) koyunlarda abortla seyreden bir salgında alınan kotiledon örneklerinde RT-PCR ile AKAV yönünden pozitiflik tespit etmişlerdir. Çalışmada tespit edilen virusların genogrup II'de olduğu belirlenmiştir. Şevik (2017a; 2017b) yaptığı iki farklı çalışmada AH sendromlu aborte koyun fötüs örneklerinde Real time RT-PCR ile pozitif olarak değerlendirdiği örneklerin dizin analizi sonucu sirküle olan AKAV'ın genogrup Ib'de olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmada elde edilen AKAV nükleik asit varlığı yönünden pozitif olarak belirlenen 17 örnekten (11 lökosit örneği ve 6 *Culicoides* havuzu), virusun S segmentine yönelik yapılan kısmi dizin analizi sonucu elde edilen virusların üçünün

genogrup Ib'de, 14'ünün ise genogrup II'de olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen genogrup II'lerin kendi aralarında karşılaştırılması durumunda, %100 benzer oldukları ve herhangi bir nükleotid değişimi olmadığı tespit edilmiştir. Genogrup II'de yer alan dizinlerin Japonya'da tespit edilen referenz suş olan OBE-1 suşuna %99,3 oranında benzer olduğu görülmüştür. Bu çalışmada tespit edilen genogrup Ib'lerin kendi aralarında karşılaştırmaları durumunda ise, %100 oranında yakın oldukları belirlenmiştir. Genogrup Ib'lerin daha önce Türkiye'de tespit edilen (Şevik, 2017b) aynı gruptaki viruslar ile %99,3-99,5 oranında benzer oldukları bulunmuştur. Ayrıca, tespit edilen genogrup Ib'lerin İsrail'de tespit edilen genogrup Ib ile benzerliğinin %96,7 oranında olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada tespit edilen genogrup II ile genogrup Ib'lerin benzerlik oranları ise % 95,50 olarak bulunmuştur. Genogrup II ve genogrup Ib'lerin genogrup Ia'da yer alan referenz suş olan İriki suşu ile sırasıyla %97,2 ve %95 oranında benzer oldukları görülmüştür (Şekil 3.11).

Bu çalışmanın sonucuna göre, Hatay ilinde AKAV genogrup Ib ve genogrup II'nin birlikte sirküle olduğu görülmektedir. Son yıllarda ülkemizde yapılan diğer çalışmalar da dikkate alındığında, AKAV enfeksiyonunun Hatay ilinin de içinde yer aldığı Akdeniz ve ayrıca Güney Doğu Anadolu bölgesinde yaygın olduğu ve özellikle son yıllarda virus sirkülasyonunun arttığı, AKAV genogrup Ib ve genogrup II'ye bağlı salgınların olabildiği izlenmektedir.

Son yıllarda ortaya çıkan arboviral enfeksiyonlardan olan SBV enfeksiyonu ilk defa 2011 yılında Almanya ve Hollanda sınırında ishal, süt veriminde düşme görülen sığırlarda tespit edilmiştir (Hoffmann ve ark., 2012). Ardından buzağı ve kuzularda konjenital deformitelerin nedeni olarak gösterilmiştir (Davies ve ark., 2012). SBV enfeksiyonu Almanya, Hollanda, Belçika, İngiltere, Fransa, Lüksemburg, İtalya, İspanya, Danimarka, İsviçre, İsveç, Avusturya, Finlandiya, Polonya, İrlanda, Norveç, Çek Cumhuriyeti, Estonya, Macaristan, Slovenya, Hırvatistan, Litvanya, Yunanistan, Rusya, Sırbistan, ve Romanya'da ve Türkiye'de bildirilmiştir (Lievaart-Petersona ve ark., 2015).

Almanya’da yapılan bir çalışmada sırasıyla sığır, koyun ve keçilerde %61, %24,7 ve 26,4 olarak SBV enfeksiyonuna karşı seropozitiflik bulunmuştur (Wernike ve ark., 2013). Belçika’da 2012 yılında 11653 sığırdan örnek alınmış ve ELISA ile kontrolü sonucunda seroprevalans değeri %99,76 olarak bulunmuştur (Meroc ve ark., 2013). Çin’de 2012-2015 yılları arasında toplam 301 serum örneği (255 sığır, 41 keçi ve 21 manda) alınmış, sığırlarda seroprevalans %30-100 arasında tespit edilirken, keçilerde %8.3-10.3, mandalarda ise %19 oranında bulunmuştur (Zhai ve ark., 2017).

Türkiye’de SBV üzerine yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan retrospektif bir çalışmada, 2006-2012 yıllarında toplanan 1362 serum örneği ELISA ile kontrol edilmiş ve hastalığın seroprevalansı sığırlarda %39,8, koyunlarda %1,6, keçilerde %2,8, mandalarda %1,5 tüm hayvanlar bazında ortalama ise %24,5 olarak bulunmuştur (Azkur ve ark., 2013). Kırıkkale ilinde yapılan bir çalışmada toplam 1038 koyun örneklenmiş ve örneklenen hayvanların %0,38’inin (4/1038) SBV spesifik antikoları yönünden pozitif olduğu tespit edilmiştir (Macun ve ark., 2017).

Yapılan bu çalışmada hayvan türlerine göre sığırlarda %43,30 (97/224), koyunlarda %10,56 (15/142), keçilerde %4,47 (6/134) ve tüm hayvanlar bazında ise %23,60 (118/500) oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (Çizelge 3.1). Bu sonuçlar daha önce ülkemizde yapılan çalışmalarda bildirilen oranlardan (Azkur ve ark., 2013 ve Macun ve ark., 2017) daha yüksek bulunmuş ve sığırlarda seroprevalans değerlerinin daha önceki çalışmalarda (Azkur ve ark., 2013; Wernike ve ark., 2015 ve Zhai ve ark., 2017) bildirildiği gibi diğer hayvan türlerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

SBV enfeksiyonuna hayvan türleri arasında duyarlılık açısından farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda, pozitiflik açısından farklılıklar gözlenmektedir. Belçika’da 83 farklı işletmeden toplam 1082 koyun örneği ve 142 keçi örneklenmiştir. Toplanan örnekler ELISA ile test edilmiş ve koyunlarda %84,31 ve keçilerde %40,68 oranında seropozitiflik bulunmuştur (Meroc ve ark., 2013). Hollanda’da 3066 sığır, 2876 koyun ve 1553 keçi örneği ile SBV seroprevalansı tespiti için yapılan çalışmada sığırlarda %63,4, koyunlarda %89, keçilerde %50,8 oranında seropozitiflik belirlenmiştir

(Veldhuis ve ark., 2013). İrlanda'da 2013 yılı haziran ayı sonunda 851 sığır ve 251 koyun örneği olmak üzere 1102 serum örneği ile çalışılmış; sırasıyla sığırlarda %46, koyunlarda %64,1 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (King ve ark.,2015).

Hayvan türleri açısından saptanan seroprevalans değerlerindeki farklılıkların, örneklenen hayvan sayısı, yaş, ırk duyarlılığı, örnekleme dönemi gibi faktörlere bağlı olarak değişim gösterdiği düşünülmektedir.

SBV enfeksiyonunun tespiti için en uygun materyalin aborte fötusa ait beyin olduğu belirtilmektedir (Peperkamp ve ark., 2015). Bu çalışmada, daha önce de belirtildiği üzere örnekleme döneminde aborte fötusa ulaşamadığından, yeni abort yapmış annelerden kan ve swap örneği alınmıştır. AKAV enfeksiyonunda olduğu gibi, SBV enfeksiyonunda da kanda viremi süresi (1-6 gün) kısa olduğundan virus tespit şansı düşmektedir. Bu durumda, SBV genomu RT-PCR ile çok kısa süre içinde tespit edilebilmektedir (Elbers ve ark., 2014 ve Poskin ve ark., 2015).

Bu araştırmada yapılan moleküler çalışma sonucunda, koyunlardan virolojik kontrol amacıyla alınan örneklerin % 13,11'inde (16/122) ve keçilerden alınan örneklerin % 13,33'ünde (26/195) SBV nükleik asit varlığı tespit edilmiştir. Koyunlarda pozitif bulunan tüm örneklerin lökosit örneği olduğu, keçilerde ise pozitif bulunan 26 örneğin 24'ünün lökosit, 2'sinin ise vajinal swap örneği olduğu belirlenmiştir. Alınan tüm örnekler dikkate alındığında ise, %7,01 (42/599) oranında SBV yönünden pozitiflik tespit edilmiştir (Çizelge 3.4).

Elde edilen koyun ve keçilerdeki yüksek pozitiflik değeri, SBV'nin aktif olduğu zaman diliminde örnekleme yapıldığını ve Hatay ilinde abort/anomalili yavru doğumu olgularında SBV'nin etiyolojik ajan olarak önemli olabileceğini göstermektedir. Ancak, kontrol edilen sinek havuzlarında yapılan moleküler çalışma sonrasında pozitiflik elde edilememiştir. Ayrıca bu çalışmada lökosit örneklerinin yanı sıra 2 keçiye ait vajinal swap örneğinde SBV nükleik asit varlığı tespiti, daha önce yapılan çalışmalarda benzer bir bulguya rastlanmadığından dolayı, SBV enfeksiyonunun

laboratuvar tanısında söz konusu örneklerin kullanılabilirliği adına değerli bir veri olarak düşünülmektedir.

Bu çalışmada tespit edilen SBV'lerin kendi aralarında ve daha önce ülkemizde (Tonbak ve ark., 2016 ve Yılmaz ve ark.,2014) ve diğer ülkelerde tespit edilen SBV'ler ile S segmenti kısmi dizin analizlerinin karşılaştırılmasında %100 benzer oldukları, herhangi bir nükleotid ve aminoasit değişimi olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 3.15). Daha önce yapılan çalışmalarda da SBV'nin invivo ve invitro düşük mutasyon oranından dolayı, izolatlar arasında farklılıklar olmadığı ve virusun stabil kaldığı bildirilmiştir (Hoffmann ve ark., 2013; Coupeau ve ark., 2016).

Bu çalışmada tespit edilen SBV'lerin aynı aileden olan SATV, SHAV, AKAV ve Aino ile S segmenti kısmi dizin analizlerinin karşılaştırılması durumunda ise, benzerlikleri sırasıyla %91,2, %94,9, %74,2 ve %76,0 olarak bulunmuştur (Şekil 3.15).

SBV enfeksiyonunda kısa süren vireminin ardından serokonversiyon 7-14 gün sonra tespit edilmekte ve 24-36 aya kadar uzayabilmektedir (Wernike ve ark., 2015). Serokonverte hayvanların SBV geçişinde düşük riske sahip olduğu söylenmesine rağmen (Elbers ve ark., 2014 ve Rodriquez-Pieto ve ark., 2016), birkaç çalışma seropozitif boğaların semeni ile virus saçıldığını göstermiştir (Hoffmann ve ark., 2013 ve Ponsort ve ark., 2014). Bu çalışmada antikor pozitif olarak belirlenen bir hayvanın (MG640113) lökosit örneğinde viral nükleik asit tespiti yapılmıştır. Bu bulgu, Elbers ve ark. (2014) ile Rodriquez-Pieto ve ark.(2016) nın bulgularını destekler niteliktedir. Antikor pozitif hayvanlarda vireminin tespit edilmesi, antikor varlığına rağmen enfekte hayvanlara ait kan, semen gibi materyaller ile virusun saçılabileceğini düşündürmektedir. Yapılacak deneysel çalışmalarla, bu konu daha ayrıntılı olarak araştırılmalı ve klarifiye edilmelidir.

Hatay ilinde örneklenen ruminant türlerinde kontrol edilen enfeksiyonlar birlikte değerlendirildiğinde, sırasıyla BTV, SBV ve AKAV için seroprevalans değerleri %47.60, %23.60 ve %25.60 olarak belirlenmiştir (Şekil 3.1). Kontrol edilen etkenlerden herhangi birine maruz kalma oranı sığırlar için %71.87 (161/224),

koyunlarda %57.74 (82/142) ve keçilerde de %58.95 (79/134) olarak tespit edilmiştir (Şekil 3.3). Tüm hayvan türlerinde ise bu oran %64.40 (322/500) olarak bulunmuştur (Şekil 3.3). Elde edilen bulgulara göre, her üç enfeksiyonun da Hatay ilinde örneklenen ruminant türlerinde yüksek olduğu görülmektedir. Sığırlarda her üç enfeksiyona dair seropozitiflik oranları benzer düzeyde bulunmuştur. Bölgede BTV enfeksiyonuna keçi ve koyunların daha duyarlı olduğu, AKAV ve SBV enfeksiyonlarına ise sığırların duyarlılığının daha fazla olduğu görülmektedir. Sığırlarda arboviral enfeksiyonlara dair daha yüksek düzeyde saptanan seropozitiflik değerlerine ilgili olarak, sığırların daha çok merada kalması nedeniyle insekt vektörlere diğer türlerden daha fazla maruz kalma olasılığı gösterilmektedir (Bartsch ve ark., 2009). Bunun yanı sıra bazı *Culicoides* türlerinin kan emmek için özellikle sığırları tercih ettiği düşünülmektedir (Bartsch ve ark., 2009; Lassen ve ark., 2011). Ayrıca SBV ve AKAV seroprevalansı koyun ve keçilerde düşük oranda tespit edilmesine rağmen, virus varlığının bu iki türde sığırlara oranla daha yüksek düzeyde tespiti, söz konusu virusların örnekleme döneminde aktif sirkülasyonunun olduğunu göstermektedir. Özellikle bu tespit, bölgede AKAV ve SBV enfeksiyonu salgınlarının oluşabileceğini göstermesi açısından bir erken uyarı sistemi olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Tekli, ikili ve üçlü enfeksiyon oranlarına bakıldığında ise, tüm hayvanlar göz önünde tutulduğunda tekli enfeksiyon oranı (%42.40; 212/500) ikili ve üçlü enfeksiyon oranlarından (%11.20; 56/500 ve %10.80; 54/500) çok daha yüksek bulunmuştur (Şekil 3.3). Söz konusu etkenlerin aynı hayvanı enfekte etme oranları elde edilen sonuçlara göre daha düşük bir olasılık olarak görülmektedir. Tekli enfeksiyonlarda özellikle BTV enfeksiyonu, SBV ve AKAV'a göre yüksek oranda bulunmuştur (Şekil 3.2). Bu durum BTV'ye karşı gelişen immunitenin bölgede virusun daha önceki yıllarda sirküle olmasıyla açıklanabilir. SBV ve AKAV'ın ise, koyun ve keçilerde örnekleme döneminde aktif sirkülasyonunun sürdüğü ve bu nedenle yeterli serokonversiyonun enfekte hayvanlarda gelişmediği düşünülmektedir.

Bu çalışmada üç enfeksiyona dair tespit edilen seropozitiflik değeri ülkemizde yapılan daha önceki çalışmalardan daha yüksek oranda bulunmuştur. Bu sonuca, örneklenen populasyonda abort yapmış hayvanların varlığının büyük etkisi vardır.

Ayrıca seroprevalans değerlerinin lokasyona, yaşa, ırk duyarlılığına ve mevsime bağlı olarak da değişebildiği göz ardı edilmemelidir.

Seropozitiflik değerlerinin örnekleme yapılan aylara göre dağılımlarına bakıldığında, BTV enfeksiyonunun seropozitiflik oranlarının en yüksek Eylül ayında olduğu (%97,05; 33/34), SBV enfeksiyonu için seropozitiflik değerinin özellikle Ekim ayında en yüksek olduğu (%50; 43/86) ve AKAV için ise en yüksek seropozitiflik değerinin Haziran ayında olduğu (%54,54;5/11) tespit edilmiştir (Şekil 3.4). Arboviral enfeksiyonlar sineklerin aktif oldukları dönemde daha yaygın olarak oluşmaktadır. Yapılan çalışmalarda *Culicoides* türlerinin Nisan-Ekim aylarında yoğun olarak bulunduğu ancak Temmuz-Eylül aylarında aktivitelerinin pik yaptığı izlenmektedir (Mellor ve ark., 2000; Larska ve ark., 2013b; Veldhuis ve ark., 2013). Bu çalışmada tespit edilen seroprevalans değerlerinin de vektörlerin en aktif olduğu yaz ve sonbahar aylarında artış gösterdiği görülmektedir. Ancak yeni abort yapmış hayvanlardan alınan örneklerde her mevsimde AKAV ve SBV pozitifliği tespit edilmiştir. Bu durumun, Hatay ilinin daha önce de bildirilen iklimsel özellikleriyle ilgili olduğu düşünülmektedir. Özellikle BTV ve SBV ana vektörü olarak öngörülen *C.obsoletus* kompleksin az da olsa 3.5⁰C de bile aktif olduğu ve bu nedenle enfekte bölgelerde yıl boyu bulunabileceği bildirilmiştir (Sprygin ve ark., 2014). Arboviral enfeksiyonların sınırlı olsa da kışın da oluştuğu ancak yüksek düzeyde virus üremesinin 12,5⁰C üzerinde olduğu bilinmektedir (Davies ve Daly, 2013).

Bu çalışmada kontrol edilen tüm viruslar *Culicoides* türü kan emen sineklerle nakledilmekte ve bu enfeksiyonlara kısaca ***Culicoides-borne Arboviruslar*** denilmektedir. Bu enfeksiyonların taşınmasında vektör olarak rol oynayan *Culicoidesler* özellikle yaz mevsiminde, kurak, nemli, bataklık ve sazlık bölgelerde aktif olarak bulunmaktadır ve ülkelere/bölgelere göre türleri değişebilmektedir (Mehlhorn ve ark., 2007). Özellikle vektörlerin tercih ettikleri yaşam alanları farklılık gösterebilmektedir. Örneğin *C.obsoletus* kompleks ormanlık alanları, *C.imicola* güneş ışığının yoğun olduğu yeşillikleri, *C.pulicaris*, *C.circumsctiptus* ve *C.maritimus* ise nemli, nehir yakınları ve rüzgarın yoğun olduğu yerleri tercih etmektedirler (Conte ve ark., 2007).

Dünyada ve ülkemizde bu hastalıkları taşıdıkları düşünülen birçok vektör türü belirlenmiştir. Dik ve ark. (2010) Hatay bölgesinde bulunan *Culicoides* türleri üzerine yaptıkları çalışmada 560 *Culicoides* yakalamışlar ve 15 tür tespit etmişlerdir. Bölgede *C.circumscriptus* ve *C.schultzei* kompleksin en yaygın türler olduğunu belirtmişlerdir. Dik ve ark. (2014) nın yine Hatay'ın da içinde bulunduğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu'da birkaç ilde yaptıkları çalışmada, *C.schultzei* dominant tür olarak bulunmuştur.

Yapılan bu çalışmada, Hatay ilinde Mayıs, Temmuz, Ağustos, Ekim 2015 ve Temmuz 2016 aylarında ışık tuzakları kurulmuştur. Işık tuzaklarından toplanan *Culicoides*lerin tür tayini yapılarak 11 farklı *Culicoides* türü tespit edilmiştir. Sırasıyla *C.schultzei*, *C.imicola*, *C.longipennis*, *C.badooshennis*, *C.obsoleteus komp.*, *C.circumscriptus*, *Culicoides.spp*, *C.gejgelenensis*, *C.maritimus*, *C.subfafascipennis*, *C.nubeculosus* türleri belirlenmiştir. Bu çalışmada Hatay ilinde Dik ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmalara benzer şekilde baskın *Culicoides* türü olarak *C.schultzei* belirlenmiştir. Ayrıca, *C.schultzei* ile birlikte BTV'nin ana vektörü olan *C.imicola* ve Avrupa'da SBV nin ana vektörü olan *C.obsoleteus da* yüksek oranda tespit edilmiştir.

Toplanan *Culicoides*lerden yapılan havuzlarda BTV, AKAV ve SBV viral nükleik asit varlığı Real Time PCR ile araştırılmıştır. BTV ve SBV yönünden herhangi bir pozitiflik tespit edilememiştir. Ancak ülkemizde daha önce BTV vektörleri üzerine yapılan çalışmalarda (Mellor ve ark 2000 ve Yavru ve ark., 2009) *C.imicola*, *C.circumscriptus*, *C.punctatus*, *C.nubeculosus* ve *C.kibunensis türlerinde* RT-PCR ile BTV yönünden pozitiflik tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, daha önceden belirtildiği üzere Ağustos 2015'de toplanan *C.longipennis* ve Ekim 2015'de toplanan *C.schultzei* havuzlarında olmak üzere 6 *Culicoides* havuzunda AKAV viral nükleik asit varlığı tespit edilmiştir. Dizin analizi sonucunda, *C.schultzei* türünde iki farklı genogruba yer alan AKAV belirlenmiştir. Bu türde tespit edilen AKAV hem genogrup Ib, hem de genogrup II'de yer alırken, *C.longipennisde* tespit edilen AKAV genogrup II'de yer almıştır. Şevik (2017a) yaptığı çalışmada RT-PCR ile *C.imicolada* AKAV nükleik asit varlığını belirlemiş ve

AKAV'ın vektörü olabileceğini bildirmiştir. Ancak bu çalışmada toplanan *C.imicola* havuzlarında herhangi bir pozitiflik tespit edilememiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre, *C.schultzei* ve *C.longipennisin* Türkiye'de AKAV için muhtemel vektör olabileceği önerilmektedir. Ayrıca bu çalışma ile ülkemizde ilk defa *C.schultzei* ve *C.longipennisde* AKAV tespit edilmiştir. Vektörlerde viral RNA tespiti, kesin vektörü tanımlamak için yeterli değildir. Viral RNA'nın, sinek kafalarından hazırlanan havuzlarda veya kan emmemiş dişilerde tespit edilmesi, aktif virus replikasyonunu vektörde göstermesi açısından önemli bulunmaktadır (Elbers ve ark., 2013). Ancak bu çalışmada sinekler bütün olarak hazırlanmış olup, kan emmiş/emmemiş ayrımı yapılamamıştır.

Segmentli genoma sahip olan virusların, aynı genus veya serogruptaki viruslar ile aynı vektörde ya da konak hücre hatlarında koenfeksiyonu durumunda reassortment olayları bildirilmektedir ve bu reassortment olayları sonrası yeni bir virus/serotip/genotip ortaya çıkabilmektedir (Borucki ve ark., 1999; Cheng ve ark., 1999). Orthobunyavirustan olan ve insanlarda ateşli hastalığa neden olan Ngari virus, Batai virus ile Bunyamwera virusun bir reassortantı olarak ortaya çıkmıştır (Briese ve ark., 2006). Yine Aino ve Paeton virus arasında da reassortment olduğu belirtilmektedir (Yanase ve ark., 2010). AKAV'ın saha izolatları ile yapılan bir çalışmada, S ve M segmentine göre yapılan filogenetik analiz sonucu genogrup II de yer alan AKAV saha izolatları L segmenti ile yapılan filogenetik analizde genogrup I' de yer almıştır. Bu veri, iki genogrup arasında genetik reassortment olduğunu göstermektedir (Kobayashi ve ark., 2007). Yapılan bu çalışmada bölgede iki farklı AKAV genogrubunun ve aynı aileden olan SBV'nin birlikte sirküle olduğu ve söz konusu enfeksiyonları taşıdığı belirtilen vektörlerin varlığı dikkate alındığında, daha sonraki yıllarda viruslarda meydana gelebilecek mutasyonlar sonucu yeni bir virus/serotip/genotipin ortaya çıkabileceği veya mevcut virusların virulenslerinde artış olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Yabani hayvanların arboviral enfeksiyonların oluşumunda etkisi olabileceği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Falconi ve ark., 2011; Kaufmann ve ark., 2012; Rossi ve ark., 2013 ve Rossi ve ark., 2017). Evcil ruminantlardan beslenen bazı

Culicoides türlerinin (*C.imicola*, *C.obsoletus*, *C.scoticus*, *C.pulicaris* ve *C.punctatus*) doğada fazla miktarda bulunması ve doğal ekosistemde vahşi ruminantlarla yakın teması, söz konusu sinek türlerinin yabani hayvanlar ile evcil hayvanlar arasında bir köprü olabileceğini düşündürmektedir (Talavera ve ark., 2017). *Culicoideslerin* konakçı tercihleri üzerine çalışmalar, ekonomik öneminden dolayı genelde çiftlik hayvanlarını baz alarak yapılmıştır (Pettersson ve ark., 2013). Yapılan bir çalışmada, *C.imicolanın* beslenme kaynağı hayvanlar araştırılmış ve at, sığır, koyuna ilave olarak insanlar, kuşlar ve köpekler sineğin beslendiği kaynaklar olarak gösterilmiştir (Slama ve ark., 2017).

Kan emen sineklerin beslenme kaynaklarını bilmek, vektörlerin biyolojisinin ve vektörlerle taşınan hastalıkların epidemiyolojisinin anlaşılmasında çok önemlidir (Darpel ve ark., 2012). İnsekt vektörlerin kompetent ve kompetent olmayan vertebralı konakçılarla temasının sıklığı, patojenitenin artışı ve farklı vertebralılara geçişi için bir risktir (Kilpatrick ve ark., 2006).

Özetle, Hatay ilinde söz konusu enfeksiyonların, örneklenen ruminant türlerinde yüksek olduğu ve abort/ölü doğum/anomalili yavru doğumu olgularında üzerinde durulması gerektiği kanısına varılmıştır. Hatay ili coğrafik konumu nedeniyle vektörle taşınan birçok enfeksiyonun girişine açık konumdadır; bu nedenle Hatay ilinin de içinde olduğu Doğu Akdeniz Bölgesinde sadece BTV, AKAV ve SBV değil, diğer *Culicoideslerce* taşınan Bovine Ephemeral Fever, West Nile ve Epizootic Hemorrhagic Disease gibi enfeksiyonlar da araştırılmaya ihtiyaç duymaktadır. SBV, BTV gibi semenle bulaşan hastalıklarda damızlıktaki hayvanların ve semenlerin kontrolü, BTV’de duyarlı populasyonun düzenli aşılması, vektörlerin kontrolü, erken uyarı sistemlerinin uygulanması gibi tedbirler *Culicoides* türleriyle taşınan arboviral enfeksiyonların mücadelesinde önemlidir. Ülkemizde BTV serotip 4 ile koyunlarda aşılama yapılıyor olmasına karşın, AKAV ve SBV’ye yönelik herhangi bir aşılama programı yoktur. Ancak son yıllarda bu hastalıkların ülkemiz açısından risk teşkil ettiği dikkate alındığında, bu hastalıklar için aşılama gündeme gelebilir. AKAV’ın bölgedeki ve ülkemizdeki sirkülasyonuna bakıldığında genogrup Ib ve genogrup II’nin sirküle olduğu görülmektedir. Olası bir aşılama programında bu

durum göz önüne alınarak, aşıların her iki genogrubu içerecek şekilde hazırlanmasının uygun olabileceği düşünülmektedir.

Vektörle mücadele arboviral enfeksiyonların kontrol altına alınmasında aşılama ile birlikte uygulanmalıdır. Kısaca alınabilecek tedbirler, larval/ergin habitatın indirgenmesi için kontrol stratejileri, bataklıkların, kirli su gölcüklerinin ya da su havuzlarının drenajı (Carpenter, 2008); çeşitli insektisitler, biorasyonel pestisitler (sineklerin gelişimini sınırlayan *Bacillus thuringiensis* gibi mikrobiyel ajanlar ya da hormonların kullanımı), hayvanlarda repellent uygulamaları ve sinek tuzakları alternatif metotlar olarak sayılabilir (Mullens ve ark., 2004).

Gerçek şu ki, bölgede bu hastalıklar varolduğu sürece her zaman salgın oluşma potansiyeli vardır. Arboviral enfeksiyonlara ilgili bölgesel/ülke bazında yapılabilecek daha geniş çaplı serolojik/moleküler çalışmalar, entomolojik, meteorolojik ve tarımsal analizlere göre, her bölgeden gelen onaylanmış güvenilir verilere dayanarak yapılacak matematik modellemeler ile hastalık salgınları tahminleri, hastalıkla mücadelede uygulanabilecek stratejilerine rehberlik edecektir. Arboviral hastalıklar yönünden endemik ülkelerde uygulandığı şekilde, arbovirus izleme programları geliştirilerek, sinek yakalama/test etme ve sentinel hayvanları içeren erken uyarı sistemlerinin uygulanmasıyla bölgede sirküle eden virusların ve yeni olguların tespitinin yapılabilmesi sağlanabilecektir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma ile, Hatay ilinde BTV, AKAV ve SBV enfeksiyonlarının prevalanslarının belirlenmesine çalışılmış ve söz konusu enfeksiyonların varlığı/yaygınlığı serolojik ve virolojik olarak ortaya konulmuştur.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre BTV, AKAV ve SBV'nin 2015-2017 yılları arasında bölgede sirküle olduğu görülmektedir. Özellikle bölgede yaygın olarak görülen abort, erken doğum, anomalili yavru doğumu olgularında BT, AKA ve SB viruslarının etiyolojik ajan olarak rol oynayabileceği göz önünde tutulmalıdır.

Yapılan filogenetik analiz sonrasında bölgede iki farklı AKAV genogrubunun (genogrup Ib ve genogrup II) birlikte sirküle olduğu görülmektedir. Tespit edilen SBV suşlarının ise Avrupa ve Türkiye'de salgına neden olan saha suşlarına %100 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Bu çalışmada tespit edilen seroprevalans değerlerinin vektörlerin en aktif olduğu yaz ve sonbahar aylarında (Haziran-Ekim) artış gösterdiği görülmektedir. Ancak yeni abort yapmış hayvanlardan alınan örneklerde her mevsimde AKAV ve SBV varlığı tespit edilmiştir. Bu duruma, Hatay ilinin daha önce de bildirilen iklimsel özelliklerinin etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Hatay ilinde BTV, AKAV, SBV enfeksiyonlarını taşıdığı düşünülen *Culicoides* türleri/dağılımı yapılmıştır. Bölgede 11 farklı *Culicoides* türü tespit edilmiştir; bu türler sırasıyla *C.schultzei*, *C.imicola*, *C.longipennis*, *C.badooshennis*, *C.obsoletus komp.*, *C.circumscriptus*, *Culicoides.spp*, *C.gejgelensis*, *C.maritimus*, *C.subfafascipennis*, *C.nubeculosus* olarak belirlenmiştir. Yapılan moleküler çalışmalar sonucunda, *C.schultzei* ve *C.longipennisde* AKAV nükleik asit varlığı tespit edilmiş ve bölgede AKAV enfeksiyonunun muhtemel vektörünün olabileceği kanısına varılmıştır.

Bölgede iki farklı AKAV genogrubunun ve aynı aileden olan SBV'nin birlikte sirküle olduğu ve söz konusu enfeksiyonları taşıdığı belirtilen vektörlerin varlığı dikkate alındığında, daha sonraki yıllarda viruslarda meydana gelebilecek mutasyonlar sonucu yeni bir virus türünün ortaya çıkabileceği veya mevcut virüslerin virulenslerinde artış olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Ruminant arboviral enfeksiyonlarının moleküler yöntemler ile hızlı tanısı, insekt vektörlerde virüslerin tespiti özellikle salgın sırasında kontrol tedbirlerinin geliştirilmesinde veteriner sağlık otoritelerine yardımcı olacaktır.

Ruminant arboviral enfeksiyonlarının epidemiyolojisinin izlenmesi ve hastalığı taşıyan insekt vektörlerin varlığı, yayılımı, lokasyonunu tanımlamak için aktif izleme programları ile kombinasyonlar yapmak, alınması gerekli tedbirleri zamanında yerine getirebilmek açısından önemlidir.

BTV enfeksiyonu için aşı tercihlerinin belirlenmesinde, ülkede sirküle olan serotiplerin düzenli olarak izlenmesi ve tespiti ön planda gelmektedir. AKAV ve SBV'ye yönelik ülkemizde herhangi bir aşılama programı yoktur. Ancak son yıllarda bu hastalıkların ülkemiz açısından risk teşkil ettiği dikkate alındığında, bu hastalıklar için aşı kullanılması gündeme gelebilir.

Bu çalışmanın ayrıca, daha geniş perspektifli bölge/ülke çapında yapılabilecek çalışmalara ve bu çalışmanın uzantısında yapılabilecek aşı çalışmaları, hızlı tanı tekniklerinin geliştirilmesi gibi çalışmalara da ışık tutabileceği düşünülmektedir.

ÖZET

Hatay ilinde ruminantlarda bazı arboviral (Akabane virus, Mavidil virus ve Schmallerberg virus) enfeksiyonların epidemiyolojisinin araştırılması ve olası vektörlerinin belirlenmesi

Son yıllarda küresel ısınmanın etkisi ile vektörlerin yaşam alanlarının genişlemesi ve buna bağlı olarak vektörlerle bulaşan hastalıklar ön plana çıkmaktadır. Bu hastalıklardan *Culicoides* cinsindeki kan emici sineklerle nakledilen ve arboviruslar içinde yer alan Akabane virus (AKAV), Mavidil virus (BTV) ve Schmallerberg virus (SBV) enfeksiyonları, meydana getirdikleri klinik bulgular sonucunda ruminant yetiştiriciliği için önemli ekonomik kayıpları da beraberinde getirmektedirler. Bu çalışmada, Hatay ilinde ruminant yetiştiriciliği yapılan işletmelerde vektör kaynaklı viral hastalıklar olan AKAV, BTV ve SBV enfeksiyonlarının epidemiyolojisinin araştırılması ve bölgede söz konusu enfeksiyonları taşıdığı düşünülen olası vektörlerin belirlenmesi planlanmıştır. Bu amaçla söz konusu enfeksiyonların varlığı/yaygınlığı serolojik ve virolojik yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. Serolojik olarak, sırasıyla BTV, SBV, AKAV antikoları %47,60 (238/500), %23,60 (118/500), %25,60 (128/500) oranında bulunmuştur. Virolojik olarak, toplanan örneklerin hiç birinde BTV viral nükleik asite rastlanmamış ancak % 7,01 (42/599) oranında SBV ve %1,83 (11/599) oranında AKAV viral nükleik asit varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca örnek alınan bölgelere ışık tuzakları kurulmuş ve söz konusu enfeksiyonları taşıdığı düşünülen *Culicoides* cinsindeki sinekler yakalanarak tür tayini yapılmıştır. Bölgede 11 farklı *Culicoides* türü tespit edilmiş ve *C.schultzei* baskın tür olarak bulunmuştur. Toplanan *Culicoides*lerde BTV ve SBV viral nükleik asit tespiti yapılamamasına rağmen, *C.schultzei* ve *C.longipennis* türlerinde AKAV viral nükleik asiti tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada söz konusu üç enfeksiyonun seropozitifliği yüksek oranda bulunmuştur. Söz konusu enfeksiyonlardan AKAV ve SBV'nin bölgede sirküle olduğu ortaya konulmuştur. Yapılan filogenetik analiz sonucu iki farklı AKAV genogrubunun (genogrup Ib ve genogrup II) bölgede sirküle olduğu tespit edilmiştir ve AKAV'ın muhtemel vektörü olarak *C.schultzei* ve *C.longipennis* önerilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Akabane, *Culicoides*, Epidemiyoloji, Mavidil, Schmallerberg Virus

SUMMARY

Epidemiologic investigation and possible vector identification of ruminant some arboviral infections (Akabane, Bluetongue and Schmallenberg virus) in Hatay province

Expansion of vector habitats with the effects of global warming in recent years, and vector-borne diseases are consequently come to the fore. This disease is of particular AKAV, BTV and SBV infection results in significant economic losses for the ruminant breeding clinical symptoms they produce, they bring about. These viruses are transmitted by *Culicoides* and is called arbovirus. In this study, we will perform epidemiological assays to determine the presence or absence, prevalence of these infections and identification of the possible vectors that are responsible for transmission of these diseases in Hatay province. For this purpose, the presence/prevalence of the mentioned infections was investigated using serological and virological methods. Serologically, the rates of antibodies for BTV, SBV, AKAV were 47,60% (238/500), 23,60% (118/500), 25,60% (128/500), respectively. Virologically, no BTV viral nucleic acid was detected in any of the collected samples, but SBV at a rate of 7.01% (42/599) and AKAV viral nucleic acid at a rate of 1.83% (11/599) were detected. In addition, light traps were set up for the specimens taken, and *Culicoides*, believed to carry the infections, were caught and identified. 11 different *Culicoides* species were detected in the area and *C. schultzei* was found as the dominant species. Although BTV and SBV viral nucleic acid were not detected in the collected *Culicoides*, AKAV viral nucleic acid was detected in *C. schultzei* and *C. longipennis* species.

In conclusion, this study found that seropositivity of three infections was high. It has been determined that AKAV and SBV are circulating in the region from the mentioned infections. It has been determined that two different AKAV genogroups (genogroups Ib and genogroups II) result in phylogenetic analysis and that the probable vectors of AKAV are *C. schultzei* and *C. longipennis*.

Keywords: Akabane, Bluetongue, *Culicoides*, Epidemiology, Schmallenberg Virus

KAYNAKLAR

- ALBAYRAK H, ÖZAN E (2010). Orta karadeniz bölgesinde ruminant ve tek tırnaklılarda kan emici sineklerle nakledilen bazı arboviral enfeksiyonların seroprevalansı. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **16**, 33-36.
- AL-BUSAIDY SM, MELLOR PS (1991). Isolation and identification of arboviruses from the Sultanate of Oman. *Epidemiol. Infect.* **106**, 403-413.
- ALEXANDER KA, MACLACHLAN NJ, KAT WP, HOUSE C, O'BRIEN SJ, LERCHE NW, SAWYER M, FRANK GL, HOLE- KAMP K, SMALE L, MCNUTT WJ, LAURENSEN MK, MILLS MGL, OSSBURN BI (1994): Evidence of natural blue- tongue virus infection among african carnivores. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **51**, 568-576.
- ALLINGHAM PG, STANDFAST HA(1990). An investigation of transovarial transmission of Akabane virus in *Culicoides brevitarsis*. *Aust. Vet. J.*, **67**, 273-274.
- ALKAN F, BILGE DAGALP S, DOGAN F, COSKUN N (2016). The Molecular Characterization of Akabane virus from Severe Outbreak in 2015 Turkey. *6th European Congress of Virology*, Hamburg, Almanya (Poster Bildiri).
- ALSAAD KM, ALAUTAISH HHN, ALAMERY MAY (2017). Congenital arthrogryposis-hydranencephaly syndrome caused by Akabane virus in newborn calves of Basrah Governorate, Iraq. *Veterinary World*, **10(9)**, 1143.
- AKASHI H, INABA Y (1997). Antigenic diversity of Akabane virus detected by monoclonal antibodies. *Virus research*, **47(2)**, 187-196.
- AKASHI H, KAKU Y, KONG XG, PANG H (1997). Sequence determination and phylogenetic analysis of the Akabane bunyavirus S RNA genome segment. *Journal of general virology*, **78(11)**, 2847-2851.
- AKASHI H, ONUMA S, NAGANO H, OHTA M, FUKUTOMI, T (1999). Detection and differentiation of Aino and Akabane Simbu serogroup bunyaviruses by nested polymerase chain reaction. *Archives of virology*, **144(11)**, 2101-2109.
- AN DJ, YOON SH, JEONG W, KIM HJ, PARK BK (2010). Genetic analysis of Akabane virus isolates from cattle in Korea. *Vet Mic- robiol.* **140(1-2)**:49-55.
- ANONIM (1980). Epizootiology, diagnosis and control of bluetongue in Turkey. *Bull offInt. Epiz*, **92** 567-564.
- ANTHONY S, JONES H, DARPEL KE, ELLIOTT H, MAAN S, SAMUEL A, MERTENS PPC. (2007). A duplex RT-PCR assay for detection of genome segment 7 (VP7 gene) from 24 BTV serotypes. *J Virol Methods* 2007, **141(2)**: 188-197.

- AZKUR AK, ALBAYRAK H, RISVANLI A, PESTIL Z, OZAN E, YILMAZ O, BULUT, H. (2013). Antibodies to Schmallenberg virus in domestic livestock in Turkey. *Tropical animal health and production*, **45(8)**, 1825-1828.
- BACKX A, HEUTINK R, VAN ROOIJ E, VAN RIJN P(2009). Transplacental and oral transmission of wild-type bluetongue virus serotype 8 in cattle after experimental infection. *Veterinary microbiology*, **138(3)**, 235-243.
- BARTSCH S, BAUER B, WIEMANN A, CLAUSEN PH, STEUBER S (2009). Feeding patterns of biting midges of the *Culicoides obsoletus* and *Culicoides pulicaris* groups on selected farms in Brandenburg, Germany. *Parasitology research*, **105(2)**, 373-380.
- BATTEN CA, MAAN S, SHAW AE, MAAN NS, MERTENS PP (2008). A European field strain of bluetongue virus derived from two parental vaccine strains by genome segment reassortment. *Virus research*, **137(1)**, 56-63.
- BATTEN CA, HENSTOCK MR, STEEDMAN HM (2013). Bluetongue virus serotype 26: infection kinetics, pathogenesis and possible contact transmission in goats. *Vet Microbiol* **157**:119–24
- BAYLIS M, MELLOR PS (2001). Bluetongue around the Mediterranean in 2001. *The Veterinary record*, **149(21)**, 659-659.
- BELLIS G (2013). Studies on the taxonomy of Australian species of *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) [thesis]. School of Biological Sciences: Queensland, Australia.
- BESSELL PR, AUTY HK, SEARLE KR, HANDEL IG, PURSE BV, BRONSVOORT BMDC (2014). Impact of temperature, feeding preference and vaccination on Schmallenberg virus transmission in Scotland. *Scientific reports*, **4**: 5746.
- BILK S, SCHULZE C, FISCHER M, BEER M, HLINAK A, HOFFMANN B (2012): Organ distribution of Schmallenberg virus RNA in malformed newborns. *Veterinary Microbiology* **159**, 236–238
- BONNEAU KR, MACLACHLAN NJ (2004). Genetic diversification of field strains of bluetongue virus. *Vet. Ital*, **40**, 446-447.
- BOONE JD, BALASURIYA UB, KARACA K, AUDONNET JC, YAO J, HE L, NORDGREN R, MONACO F, SAVINI G, GARDNER IA, MACLACHLAN NJ (2007). Recombinant canarypox virus vaccine co-expressing genes encoding the VP2 and VP5 outer capsid proteins of bluetongue virus induces high level protection in sheep. *Vaccine* **25**: 672-678.
- BORUCKI MK, CHANDLER LJ, PARKER BM, BLAIR CD, BEATY BJ (1999). Bunyavirus superinfection and segment reassortment in transovarially infected mosquitoes. *J. Gen. Virol.* **80**, 3173-3179
- BOUWSTRA RJ, KOOI EA, DE KLUIJVER EP, VERSTRATEN ERAM, BONGERS JH, VAN MAANEN C, ... & VAN DER POEL WHM (2013). Schmallenberg virus outbreak in the Netherlands: routine diagnostics and test results. *Veterinary microbiology*, **165(1)**, 102-108.

- BREARD E, HAMBLIN C, HAMMOUMI S, SAILLEAU C, DAUPHIN G, ZIENTARA S (2004). The epidemiology and diagnosis of bluetongue with particular reference to Corsica. *Research in veterinary science*, **77**(1), 1-8.
- BRIESE T, BIRD B, KAPOOR V, NICHOL ST, LIPKIN WI (2006). Batai and Ngari viruses: M segment reassortment and association with severe febrile disease outbreaks in East Africa. *J Virol* **80**:5627–5630
- BROOKES SM, HYATT AD, EATON BT (1993). Characterization of virus inclusion bodies in bluetongue virus-infected cells. *J Gen Virol*, **74**: 525-30.
- BURGU I, URMAN HK, AKCA Y, YONGUC A, MELLOR PS, HAMBLING C (1992). Serologic survey and vector surveillance for bluetongue in southern Turkey. In : *Bluetongue, African Horse Sickness and Related Orbivirus*. Ed.: Walten TE, Osburn BI, Crs. Pres. Inc., Fla., P:525-532.
- CABALAR M, BILGE DAGALP S (2006). Seroprevalence of Bluetongue and Akabane diseases in dairy cattle in South-East Turkey. *Slovenian Veterinary Research*, **43**(Supplement 10), 296-297.
- CARPENTER, S. R. (2008). Phosphorus control is critical to mitigating eutrophication. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105**(32), 11039-11040.
- CHAND K, BISWAS SK, PANDEY AB, MUTHUCHELVAN D, MONDAL B (2015). Bluetongue in India: A review. *Adv. Anim. Vet. Sci*, **3**(11), 605-612.
- CHAIGNAT V, WORWA G, SCHERRER N, HILBE M, EHRENSPERGER F, BATTEN C, CORTYEN M, HOFMANN M, THUER B (2009). Toggenburg Orbivirus, a new bluetongue virus: initial detection, first observations in field and experimental infection of goats and sheep. *Veterinary microbiology*, **138**(1), 11-19.
- CHENG LL, RODAS JD, SCHULTZ KT, CHRISTENSEN BM, YUILL TM, ISRAEL BA (1999). Potential for evolution of California serogroup bunyaviruses by genome reassortment in *Aedes albopictus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **60**, 430-438
- CHOMCZYNSKI P, SACCHI N (1987). Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical biochemistry*, **162**(1), 156-159.
- CLAVIJO A, HECKERT RA, DULAC GC, AFSHAR A (2000). Isolation and identification of bluetongue virus. *J. Virol. Method.* **87**: 13-23.
- CONRATHS FJ, PETERS M, BEER M (2013). Schmallenberg virus, a novel orthobunyavirus infection in ruminants in Europe: potential global impact and preventive measures. *New Zealand veterinary journal*, **61**(2), 63-67.
- CONTE A, IPPOLITI C, SAVINI L, GOFFREDO, MEISWINKEL R (2007). Novel environmental factors influencing the distribution and abundance of *Culicoides imicola* and the *C. obsoletus* complex in Italy. *Vet Ital*, **43**: 571-580.
- DARPEL KE, BATTEN CA, VERONESI E, SHAW AE, ANTHONY S, BACHANEK-BANKOWSKA K, KGOSANA L, BIN-TARIF A, CARPENTER S, MULLER-DOBLIES UU, TAKAMATSU H-H, MELLOR PS, MERTENS PPC, OURA CAL (2007): Clinical signs and

pathology shown by British sheep and cattle infected with bluetongue virus serotype 8 derived from the 2006 outbreak in northern Europe. *Veterinary Record* **161**, 253–261.

DARPEL KE, BATTEN CA, VERONESI E, WILLIAMSON S, AN-DERSON P, DENNISON M, CLIFFORD S, SMITH C, PHILIPS L, BIDEWELL C, BACHANEK-BANKOWSKA K, SANDERS A, BIN-TARIF A, WILSON AJ, GUBBINS S, MERTENS PPC, OURA CA, MELLOR PS (2009): Transplacental transmission of bluetongue virus 8 in cattle, UK. *Emerging Infectious Diseases* **15**, 2025–2028.

DARPEL KE, MONAGHAN P, SIMPSON J, ANTHONY SJ, VERONESI E, BROOKS HW, MERTENS PP (2012). Involvement of the skin during bluetongue virus infection and replication in the ruminant host. *Veterinary research*, **43(1)**, 40.

DAVIES P, DALY J (2013). SBV transmission. *Veterinary Record*, **172(19)**, 509-510.

DAVIES I, VELLEMA P, ROGER P (2012). Schmallenberg virus—an emerging novel pathogen. *In Practice*, **34(10)**, 598-604.

DE CLERCQ K, MERTENS P, DE LEEUW I, OURA C, HOUDART P, POTGIETER AC, MAAN S, HOOYBERGHS J, BATTEN C, VAN-DEMEULEBROUCKE E, WRIGHT IM, MAAN N, RIOCREUX F, SANDERS A, VANDERSTEDÉ Y, NOMIKOU K, RAEMAEKERS M, BINTARIF A, SHAW A, HENSTOCK M, BREARD E, DUBOIS E, GASTALDI-THIERY C, ZIENTARA S, VERHEYDEN B, VANDENBUSSCHE F. (2009). Emergence of bluetongue serotypes in Europe, Part 2: The occurrence of a BTV-11 strain in Belgium. *Transboundary and Emerging Diseases* **56**, 355–361

DE LIBERATO C, SCAVIA G, LORENZETTI R, SCARAMOZZINO P, AMADDEO D, CARDETI G, SCICLUNA M, FERRARI G, AUTORINO GL (2005). Identification of *Culicoides obsoletus* (Diptera: Ceratopogonidae) as a vector of bluetongue virus in central Italy. *Veterinary Record*, **156(10)**, 301-304.

DIK B (1989). Konya ve çevresinde bulunan *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) türleri üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

DIK B (1993). Adana, İçel ve Antalya yörelerinde bulunan *Culicoides* Latreille, 1809 (Diptera: Ceratopogonidae) türlerinin tespiti. *Türk Vet. Hek. Derg.* **5(2)**, 48-55.

DIK B (1997). Ceratopogonid'ler ve parazitolojik önemleri. Parazitolojide artropod hastalıkları ve vektörler. In, Özcel MA, Daldal N (Eds): *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **13**: 111-143.

DIK B, ERGUL R (2006). Konya'daki *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) türlerinin gece uçuş aktiviteleri. *T. Parazitol. Derg.* **30(3)**, 213-216.

DIK B, YAGCI S, LINTON YM (2006). A review of species diversity and distribution of *Culicoides* Latreille, 1809 (Diptera: Ceratopogonidae) in Turkey *Journal of Natural History*, **40**: 1947-1967.

DIK B, YAMAN M, USLU U (2010). *Culicoides* species (Latreille, 1809)(Diptera: Ceratopogonidae) in Hatay province. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **16**: 255-258.

- DIK B, YAVRU S, USLU U, YAPICI O, ESIN E (2012). Determination of *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) as suspect vectors of epizootic haemorrhagic disease and bluetongue viruses in southern and western Anatolia by RT-PCR. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **163**, 505-510.
- DIK B, MUZ D, MUZ MN, USLU U (2014). The geographical distribution and first molecular analysis of *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) species in the Southern and Southeastern Turkey during the 2012 outbreak of bovine ephemeral fever. *Parasitology research*, **113**(11), 4225-4232.
- DZHAFAROV SM (1976). Biting midges (Diptera: Heleidae) of Transcaucasus (morphology, biology, ecology, geographical distribution and harmfulness, control. Fauna of the genera *Culicoides*, *Leptoconops* and *Lasiohelea*). Franklin Book Programs, Cairo,
- DUCOMBLE T, WILKING H, STARK K, TAKLA A, ASKAR M, SCHAADE L, NITSCHKE A, KURTH A (2012). Lack of evidence for Schmallenberg virus infection in highly exposed persons, Germany, 2012. *Emerg. Infect. Dis.* **18**, 1333–1335.
- DUNBAR MR, CUNNINGHAM MW, ROOF JC (1998): Sero-prevalence of selected disease agents from free-ranging black bears in Florida. *Journal of Wildlife Disease* **34**, 612–619.
- EATON BT, HYATT AD, WHITE JR. (1988). Localization of the nonstructural protein NS1 in bluetongue virus-infected cells and its presence in virus particles. *Virology*, **163**(2), 527-37.
- EDGAR RC (2004). MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res* **32**: 1792–1797, doi:10.1093/nar/gkh340.
- EDI SP, IBRAHIM A, SUKOCO R, BUNALI L, TAGUCHI M, KATO T, YANASE T, SHIRAFUJI H (2017). Molecular characterization of an Akabane virus isolate from West Java, Indonesia. *Journal of Veterinary Medical Science*, **79**(4), 774-779.
- EFSA (2012). Schmallenberg virus: analysis of the epidemiological data and impact assessment. *EFSA Journal*, **10**: 2768
- EIFAN S, SCHNETTLER E, DIETRICH I, KOHL A, BLOMSTROM AL (2013). Non-structural proteins of arthropod-borne bunyaviruses: roles and functions. *Viruses*, **5**(10), 2447-2468.
- ELBERS AR, BACKX A, MEROE E, GERBIER G, STAUBACH C, HENDRICKX G, MINTIENS K (2008). Field observations during the bluetongue serotype 8 epidemic in 2006: I. Detection of first outbreaks and clinical signs in sheep and cattle in Belgium, France and the Netherlands. *Preventive veterinary medicine*, **87**(1), 21-30.
- ELBERS AR, MEISWINKEL R, VAN WEEZEP E, VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN MMS, KOOIEA (2013). Schmallenberg virus in *Culicoides* spp. biting midges, the Netherlands, 2011. *Emerging infectious diseases*, **19** (1), 106.
- ELBERS AR, STOCKHOFE-ZURWIEDEN N, VAN DER POEL WH. (2014). Schmallenberg virus antibody persistence in adult cattle after natural infection and decay of maternal antibodies in calves. *BMC veterinary research*, **10**(1), 103.
- ELBERS ARW, KOENRAADT CJM, MEISWINKEL R (2015). Mosquitoes and *Culicoides* biting midges: vector range and influence of climate change. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, **34**: 123-137.

- ELLIOTT RM (2014). Orthobunyaviruses: recent genetic and structural insights. *Nature reviews Microbiology*, **12** (10), 673-685.
- EL SINNARY KA, MULLER R, ATTA EL MANNAN A, HUSSEIN SH (1985). The diurnal activity of *Culicoides kingi* in northern Sudan. *Rev Elev Méd vét Pays trop*, **38**: 270–275
- ERASMUS BJ (1990). Bluetongue virus. *Virus infections of ruminants*, Ed.: Z.Dinter, B,Morein, Amsterdam, The Netherland, p.: 227-237.
- EREN H, YAGCI S, DINCER Ş (1995). Ankara'da bulunan *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) türleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, **42**, 179-182.
- ERTURK A (1994). Çeşitli serumlarda (koyun, keçi, sığır) mavidil antikorlarının agar-jel presipitasyon testi ile araştırılması. *Etlik Vet. Mikrobiol. Derg.*, **7**(5); 1-9.
- ESCHBAUMER M, HOFFMANN B, MOSS A, SAVINI G, LEONE A, KONIG P, ZEMKE J, CONRATHS F, BEER M (2010). Emergence of bluetongue virus serotype 6 in Europe-German field data and experimental infection in cattle. *Veterinary Microbiology* **143**, 189–195.
- ESTEVEZ F, MESQUITA JR, NOBREGA C, SANTOS C, MONTEIRO A, CRUZ R, COELHO AC (2016). Epidemiology and Emergence of Schmallenberg Virus Part 1: Origin, Transmission and Differential Diagnosis. In *Epidemiology of Communicable and Non-Communicable Diseases-Attributes of Lifestyle and Nature on Humankind*. InTech.
- EVANS CAN, REYNOLDS JM, REYNOLDS ML, SAUNDERS NR, SEGAL MB (1974). The development of a blood-brain barrier mechanism in foetal sheep. *The Journal of physiology*, **238**(2), 371-386.
- FALCONI C, LOPEZ-OLVERA JR, GORTAZAR C (2011). BTV infection in wild ruminants, with emphasis on red deer: a review. *Veterinary microbiology*, **151**(3), 209-219.
- FEENSTRA F, VAN GENNÏP RG, MARIS-VELDHUIS M, VERHEIJ E, VAN RIJN PA (2014). Bluetongue virus without NS3/NS3a expression is not virulent and protects against virulent bluetongue virus challenge. *Journal of General Virology*, **95**(9), 2019-2029.
- FIRTH AE (2008). Bioinformatic analysis suggests that the Orbivirus VP6 cistron encodes an overlapping gene. *Virol J*, **5**, 48.
- FRANCESCH V, CAPOCEFALO A, CALVO-PINILLA E, REDAELLI M, MUCIGNAT-CARETTA C, MERTENS P, DONOFRIO G (2011). Immunization of knock-out α/β interferon receptor mice against lethal bluetongue infection with a BoHV-4-based vector expressing BTV-8 VP2 antigen. *Vaccine*, **29**(16), 3074-3082.
- GIBBS, EPJ, GRENER EC (1994). The epidemiology of bluetongue. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, **17**(3-4), 207-220.
- GOFFREDO M, MONACO F, CAPELLI G, QUAGLIA M, FEDERICI V, CATALANI M, MONTARSI F, POLCI A, PINONI C, CALISTRI P, SAVINI G (2013). Schmallenberg virus in Italy: a retrospective survey in *Culicoides* stored during the bluetongue Italian surveillance program. *Preventive veterinary medicine*, **111**(3), 230-236.

- GOLLER KV, HOPER D, SCHIRRMEIER H, METTENLEITER TC, BEER M (2012). "Schmallenberg virus as possible ancestor of shamonda virus." *Emerg Infect Dis* **18(10)**: 1644-1646.
- GUBBINS S, TURNER J, BAYLIS M, VAN DER STEDE Y, VAN SCHAİK G, ABRAHANTES JNC, WILSON AJ (2014). Inferences about the transmission of Schmallenberg virus within and between farms. *Preventive veterinary medicine*, **116(4)**, 380-390.
- GUR S (2008). A serologic investigation of blue tongue virus (BTV) in cattle, sheep and gazella subgutturosa subgutturosa in southeastern Turkey. *Tropical animal health and production*, **40(3)**, 217-221.
- GUR S, OZGUNLUK I, AKCA Y, BURGU I (2011). Serologic investigation for bluetongue virus type 4, 9 and 16 in Anatolian water buffaloes. *Acta Veterinaria Brno*, **80(1)**, 41-46.
- HALIGUR M, HASIRCIOGLU S, OZMEN O, KALE M, AYDOGAN A (2014). Immunohistochemical evaluation of akabane virus infection in aborted and new-born calves. *Veterinarni Medicina*, **59 (5)**: 230–238
- HART CA (2001). Arboviruses. *Encyclopedia of Arthropod-transmitted Infections of Man and Domesticated Animals*.
- HAZIROGLU R (1987). Buzağılarda hydranencephalie olgularında patolojik-anatomik bulgular. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Ankara.
- HECHINGER S, WERNIKE K, BEER M (2013). Evaluating the protective efficacy of a trivalent vaccine containing Akabane virus, Aino virus and Chuzan virus against Schmallenberg virus infection. *Veterinary research*, **44(1)**, 114.
- HECHINGER S (2015). Development and efficacy testing of inactivated vaccines against Schmallenberg virus infection in cattle and sheep (2015. PhD Thesis. Imu.).
- HENRICH M, REINACHER M, HAMANN HP (2007): Lethal bluetongue virus infection in an alpaca. *Veterinary Record* **161**, 764.
- HOFMANN MA, RENZULLO S, MADER M, CHAIGNAT V, WORWA G, THUER B (2008). Genetic characterization of toggenburg orbivirus, a new bluetongue virus, from goats, Switzerland. *Emerging infectious diseases*, **14(12)**, 1855.
- HOFFMANN B, SCHEUCH M, HOPER D, JUNGBLUT R, HOLSTEG M, SCHIRRMEIER H, BEER M (2012). Novel orthobunyavirus in cattle, Europe, 2011. *Emerg Infect Dis*, **18(3)**, 469-472.
- HOFFMANN B, SCHULZ C, BEER M (2013). First detection of Schmallenberg virus RNA in bovine semen, Germany, 2012. *Veterinary microbiology*, **167(3)**, 289-295.
- HOWERTH EW, TYLER DE (1988). Experimentally induced bluetongue virus infection in white-tailed deer: ultrastructural findings. *American Journal of Veterinary Research* **49**, 1914–1922

- HOWERTH EW, DORMINY M, DREESEN DW, SPIRES EA, STALLKNECHT DA (1995) Low prevalence of antibodies to bluetongue and epizootic hemorrhagic disease viruses in dogs from southern Georgia. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **7**, 393–394.
- HOWERTH EW, STALLKNECHT DE, KIRKLAND PD (2001). Blue-tongue, epizootic hemorrhagic disease, and other orbivirus related diseases. In: Williams ES, Barker IK (eds.): *Infectious diseases of wild mammals*. 3rd ed. Iowa State University Press, Iowa. 77–97.
- HUANG CC, HUANG TS, DENG MC, JONG MH, LIN SY (2003). Natural infections of pigs with akabane virus. *Veterinary microbiology*, **94** (1), 1-11.
- HYATT AD, GOULD AR, COUPAR B, EATON BT (1991). Localization of the non-structural protein NS3 in bluetongue virus-infected cells. *Journal of General Virology*, **72**: 2263-2267.
- ICTV (2017). International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV).
- ILCHMANN A, ARMSTRONG AA., CLAYTON RF (2017). Schmallenberg virus, an emerging viral pathogen of cattle and sheep and a potential contaminant of raw materials, is detectable by classical in-vitro adventitious virus assays. *Biologicals*, **49**: 28-32.
- IZZO F, COSSEDDU GM, POLCI A, IAPAOLLO F, PINONI C, DONDONA AC, VALLERIANI F, MONACO F (2016). Genetic characterization of Italian field strains of Schmallenberg virus based on N and NSs genes. *Virus genes*, **52**(4), 582-585.
- JAUNIAUX TP, DE CLERCQ KE, CASSART DE, KENNEDY S, VANDENBUSSCHE FE, VANDEMEULEBROUCKE EL, COÏGNOUL FL (2008). Bluetongue in Eurasian lynx. *Emerging Infectious Diseases*, **14**(9), 1496.
- JENNINGS M, MELLOR PS (1989). Culicoides: Biological vectors of Akabane virus. *Vet. Microbiol.* **21**, 125–131.
- JEONG H, OEM JK, YANG MS, YANG D, KIM MS, LEE KH, LIM CW, KIM B (2017). Experimental Infection of Goats with a Newly Isolated Strain of Akabane Virus that Causes Encephalomyelitis. *Journal of Comparative Pathology*, **157**(2-3), 220-229.
- JIMENEZ-CLAVERO MA (2012). Animal viral diseases and global change: bluetongue and West Nile fever as paradigms. *Frontiers in genetics*, **3**.
- JOHNSON DJ, OSTLUND EN, STALLKNECHT DE, GOEKJIAN VH, JENKINS-MOORE M, HARRIS SC (2006). First report of bluetongue virus serotype 1 isolated from a white-tailed deer in the United States. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **18**, 398–401.
- KARAOGLU T, OZGUNLUK I, DEMIR A, OZKUL A, BURGU I (2007). Seroprevalence of culicoides-borne disease in cattle in European Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, **54**, 121-125.
- KARAOGLU T, OZGUNLUK I, YILDIRIM Y, GUNGOR E, OGUZOGLU C, BILGE DAGALP S, OZKUL A, ALKAN F, AKCA Y, BURGU I (2012). Seroepidemiology of Bluetongue Virus Infection in Northeast and Southeast Anatolia, Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, **59**, 289-294.

- KAUFMANN C, STEINMANN IC, HEGGLIN D, SCHAFFNER F, MATHIS A, (2012). Spatio-temporal occurrence of *Culicoides* biting midges in the climatic regions of Switzerland, along with large scale species identification by MALDI-TOF mass spectrometry. *Parasit. Vectors*. **5**, 1–10.
- KILPATRICK AM, DASZAK P, JONES MJ, MARRA PP, KRAMER LD (2006). Host heterogeneity dominates West Nile virus transmission. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **273**:2327-2333.
- KIM YH, KWEON CH, TARK DS, LIM SI, YANG DK, HYUN BH, SONG JY, HUR W, PARK SC (2011). Development of inactivated trivalent vaccine for the teratogenic Aino, Akabane and Chuzan viruses. *Biologicals*, **39**(3), 152-157.
- KING B, BROWN TOS, TARLINTON R, DALY JM (2015). Seroprevalence of Schmallenberg virus in the United Kingdom and the Republic of Ireland: 2011–2013. *Veterinary microbiology*, **180**(1), 36-40.
- KIRKLAND PD. (2015). Akabane virus infection. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*, **34**, 403-410.
- KITTELBERGER R, MCFADDEN AM, KIRKLAND PD, HANNAH MJ, ORR D, BUENO R, PIGOTT CJ (2013). Evaluation of two commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits for the detection of serum antibodies against Akabane virus in cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **25**(5), 645-648.
- KOBAYASHI T, YANASE T, YAMAKAWA M, KATO T, YOSHIDA K, TSUDA T (2007). Genetic diversity and reassortments among Akabane virus field isolates. *Virus research*, **130**(1), 162-171.
- KOC BT, EROL N (2017). Aydın ve Muğla İllerindeki Sığır, Koyun, Keçi ve Develerde Akabane Virus (AKAV) Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması. *Animal Health Prod and Hyg* **6**(1): 447 - 450
- KOHL A, LOWEN AC, LEONARD V H J, ELLIOTT R M (2006). Genetic elements regulating packaging of the Bunyamwera orthobunyavirus genome. *J. Gen. Virol.* **87**, 177–187
- KRAATZ F, WERNIKE K, HECHINGER S, KONIG P, GRANZOW H, REIMANN I, BEER M (2015). Deletion mutants of Schmallenberg virus are avirulent and protect from virus challenge. *Journal of virology*, **89** (3): 1825-1837.
- KULAC E, KIRMIZIGUL AH, YILDIRIM Y (2016). Rize Yöresindeki Sığırlarda Mavi Dil Enfeksiyonunun Seroprevalansı. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, **11**(2): 151-158
- KUROGI H, INABA Y, TAKAHASHI E, SATO K, OMORI T, MIURA Y, GOTO Y, FUJIWARA Y, HATANO Y, KODAMA K, FUKUYAMA S, SASAKI N, MATUMOTO M (1976). Epizootic congenital arthrogryposis-hydranencephaly syndrome in cattle: isolation of Akabane virus from affected fetuses. *Archives of virology*, **51**(1), 67-74.
- KUROGI H, AKIBA K, INABA Y, MATUMOTO M (1987). Isolation of Akabane virus from the biting midge *Culicoides oxystoma* in Japan. *Vet. Microbiol.* **15**, 243–248.

- LARSKA M, POLAK MP, GROCHOWSKA M, LECHOWSKI L, ZWIĄZEK JS, ZMUDZINSKI JF (2013a). First report of Schmallenberg virus infection in cattle and midges in Poland. *Transboundary and emerging diseases*, **60**(2), 97-101.
- LARSKA M, LECHOWSKI L, GROCHOWSKA M, ZMUDZINSKI JF (2013b). Detection of the Schmallenberg virus in nulliparous *Culicoides obsoletus/scoticus* complex and *C. punctatus*—the possibility of transovarial virus transmission in the midge population and of a new vector. *Veterinary microbiology*, **166**(3), 467-473.
- LARSSON A (2014). AliView: A fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics* **30**: 3276–3278.
- LEBLANC N, RASMUSSEN TB, FERNANDEZ J, SAILLEAU C, RASMUSSEN LD, UTTENTHAL A, ZIENTARA B, BELAK S, HAKHVERDYAN M (2010). Development of a real-time TR-PCR assay based on primer probe energy transfer for the detection of all serotypes of bluetongue virus. *J. Virol. Method.* **167**: 165- 171.
- LECHNER I, WUTHRICH M, MEYLAN M, VAN DEN BORNE BH. SCHUPBACH-REGULA G (2017). Association of clinical signs after acute Schmallenberg virus infection with milk production and fertility in Swiss dairy cows. *Preventive veterinary medicine*, **146**, 121-129.
- LEE JH, SEO HJ, PARK JY, KIM SH, CHO YS, KIM YJ, CHO IS, JEOUNG HY (2015). Detection and differentiation of Schmallenberg, Akabane and Aino viruses by one-step multiplex reverse-transcriptase quantitative PCR assay. *BMC veterinary research*, **11**(1), 270.
- LIEVAART-PETERSON K, LUTTIKHOLT S, PEPERKAMP K, VAN DEN BROM R, VELLEMA P (2015). Schmallenberg disease in sheep or goats: Past, present and future. *Veterinary microbiology*, **181**(1), 147-153.
- LOPEZ-OLVERA JR, FALCONI C, FERNANDEZ-PACHECO P (2010). Experimental infection of European red deer (*Cervus elaphus*) with bluetongue virus serotypes 1 and 8. *Vet Microbiol* **145**:148–52.
- MAAN S, MAAN NS, NOMIKOU K, ANTHONY SJ, ROSS-SMITH N (2009) Molecular epidemiology studies of bluetongue virus Chapter 7. In: Mellor PS, Baylis M, Mertens PPC, editors. Elsevier. London: *Bluetongue. pp.* 135–156.
- MAAN S, MAAN NS, VAN RIJN PA, VAN GENNIP RG, SANDERS A, WRIGHT IM, MERTENS PP (2010). Full genome characterisation of bluetongue virus serotype 6 from the Netherlands 2008 and comparison to other field and vaccine strains. *PLoS One*, **5**(4), e10323.
- MAAN S, MAAN NS, NOMIKOU K, BATTEN C, ANTONY F, BELAGANAHALLI MN, MERTENS PP. (2011a). Novel bluetongue virus serotype from Kuwait. *Emerging infectious diseases*, **17**(5), 886.
- MAAN S, MAAN NS, NOMIKOU K, VERONESI E, BACHANEK-BANKOWSKA K, BELAGANAHALLI MN, MERTENS PP (2011b). Complete genome characterisation of a novel 26th bluetongue virus serotype from Kuwait. *PLoS One*, **6**(10), e26147.

- MAAN NS, MAAN S, BELAGANAHALLI M, PULLINGER G, MONTES AJ, GASPARINI MR, ... & MERTENS PC (2015). A quantitative real- time reverse transcription PCR (qRT-PCR) assay to detect genome segment 9 of all 26 bluetongue virus serotypes. *J Virol Methods*. **213**:118–26.
- MAAN S, MAAN NS, MANJUNATHA N. BELAGANAHALLI, ABRAHAM C. POTGIETER, VINAY KUMAR, KANISHT BATRA, ISABEL M. WRIGHT, PETER D. KIRKLAND, MERTENS P (2016).Development and Evaluation of Real Time RT-PCR Assays for Detection and Typing of Bluetongue Virus. *PloS one*, **11(9)**, e0163014.
- MACLACHLAN NJ, DREW CP, DARPEL KE, WORWA G (2009). The pathology and pathogenesis of bluetongue. *Journal of comparative pathology*, **141(1)**, 1-16.
- MACLACHLAN NJ (2010). Global implications of the recent emergence of bluetongue virus in Europe. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **26(1)**, 163-171.
- MACUN HC, AZKUR AK, KALENDER H, ERAT S (2017). Kırıkkale’de yetiştirilen koyunlarda Schmallenberg virüs seroprevalansı ve bazı coğrafi özelliklerle ilişkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, **64**, 93-97,
- MARTINELLE L, POSKIN A, DAL POZZO F, DE REGGE N, CAY B, SAEGERMAN C (2015). Experimental infection of sheep at 45 and 60 days of gestation with Schmallenberg virus readily led to placental colonization without causing congenital malformations. *PloS one*, **10(9)**, e0139375.
- MAUROY A, GUYOT H, DE CLERCQ K, CASSART D, THIRY E, SAEGERMAN C (2008). Bluetongue in captive yaks. *Emerging Infectious Diseases* **14**, 675–676.
- MAYO C, MULLENS AB, GARDNER I, GERRY A, BARKER C, MACLACHAN N (2012). Surveillance of Culicoides sonorensis and sentinel dairy cattle for bluetongue virus infection in California Conference: Conference: *Entomological Society of America Annual Meeting* 2012.
- MECHAM J (2006). Detection and titration of bluetongue virus in Culicoides insect cell culture by an antigen-capture enzyme- linked immunosorbent assay. *J. Virol. Method*. **135**: 269- 271.
- MEHLHORN H, WALLDORF V, KLIMPEL S, JAHN B, JAEGER F, ESCHWEILER J, BEER M (2007). First occurrence of Culicoides obsoletus-transmitted Bluetongue virus epidemic in Central Europe. *Parasitology research*, **101(1)**, 219-228.
- MELLOR PS (1990). The replication of bluetongue virus in Culicoides vectors. *Curr Top Microbiol Immunol*, **162**, 143-61
- MELLOR PS, JENNINGS DM, HAMBLING C, BURGU I, URMAN HK, AKCA Y, HAZIROGLU R, ALKAN F, YONGUC AD, OZKUL A, EREN H (1995). Control of akabane disease and surveillance of bluetongue and ephmeral fever. *United Nations Development Programme, Food and Agriculture Organization of The United Nations Rome*.
- MELLOR PS, BOORMAN J, BAYLIS (2000) *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectrs. *Annual Review of Entomology*, **45**, 37–40.
- MELLOR PS, WITTMANN EJ (2002). Bluetongue virus in the Mediterranean Basin 1998-2001. *Vet J*, **164**, 20-37.

- MELLOR PS, CARPENTER S, HARRUP L, BAYLIS M, MERTENS PP (2008). Bluetongue in Europe and the Mediterranean Basin: history of occurrence prior to 2006. *Preventive veterinary medicine*, **87**(1), 4-20.
- MENZIES FD, MCCULLOUGH SJ, MCKEOWN I.M, FORSTER JL, JESS S, BATTEN C, MURCHIE AK, GLOSTER J, FALLOWS JG, PELGRIM W, MELLOR PS, OURA CAL (2008). Evidence for transplacental and contact transmission of bluetongue virus in cattle. *Vet. Rec.* **163**, 203–209.
- MEROC E, POSKIN A, LOO HV, QUINET C, DRIESSCHE EV, DELOOZ L, ...& CAIJ AB (2013). Large-Scale Cross-Sectional Serological Survey of Schmallenberg Virus in Belgian Cattle at the End of the First Vector Season. *Transboundary and emerging diseases*, **60**(1), 4-8.
- MERTENS PP, BROWN F, SANGAR DV (1984) Assignment of the genome segments of bluetongue virus type 1 to the proteins which they encode. *Virology*, **135**(1):207–17.
- MERTENS PPC, PEDLEY S, COWLEY J, BURROUGHS JN, CORTEYN AH, JEGGO MH, JENNINGS DM, GORMAN BM (1989). Analysis of the roles of bluetongue virus outer capsid proteins VP2 and VP5 in determination of virus serotype. *Virology*, **170**(2):561–5.
- MERTENS PPC (1999). Orbiviruses and coltivirus—general features. *Encyclopedia of virology*, **2**, 941-956.
- MERTENS PPC, MAAN NS, PRASAD G, SAMUEL, AR, SHAW AE, POTGIETER AC, ANTHONY SJ, MAAN S (2007). Design of primers and use of RT-PCR assays for typing European bluetongue virus isolates: differentiation of field and vaccine strains. *The Journal of general virology* **88**(10), 2811–2823.
- METSELAAR D, ROBIN Y (1976). Akabane virus isolated in Kenya. *Veterinary Record*, **99**(5), 86-86.
- MEYER G, LACROUX C, LEGER S, TOP S, GOYEAU K, DE-PLANCHE M, LEMAIRE M (2009). Lethal bluetongue virus serotype 1 infection in llamas. *Emerging Infectious Diseases* **15**, 608–609
- MIURA Y, HAYASHI S, ISHIHARA T, INABA Y, OMORI T, MATUMOTO M (1974). Neutralizing antibody against Akabane virus in precolostral sera from calves with congenital arthrogryposis-hydranencephaly syndrome. *Archiv für die Gesamte Virus-forschung*, vol. **46**, no.3-4, pp. 377–380.
- MIYAZATO S, MIURA Y, HASE M, KUBO M, GOTO Y, KONO Y (1989). Encephalitis of cattle caused by Iriki isolate a new strain belonging to Akabane virus. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **51**, 128–136.
- MODUMO J, VENTER EH (2012). Determination of the minimum protective dose for bluetongue virus serotype 2 and 8 vaccines in sheep. *Journal of the South African Veterinary Association*, **83**(1), 24-30.
- MOHL BP, ROY P (2014). Bluetongue virus capsid assembly and maturation. *Viruses*, **6**(8), 3250-3270.

- MONACO F, CAMMA C, SERINI S, SAVINI G (2006). Differentiation between field and vaccine strain of bluetongue virus serotype 16. *Veterinary microbiology*, **116**(1), 45-52.
- MORAG N, SAROYA Y, BRAVERMAN Y, KLEMENT E, GOTTLIEB Y (2012). Molecular identification, phylogenetic status, and geographic distribution of *Culicoides oxystoma* (Diptera: Ceratopogonidae) in Israel. *PLoS One*, **7**(3), e33610.
- MULLENS BA, GERRY AC, LYSYK TJ, SCHMIDTMANN ET (2004). Environmental effects on vector competence and virogenesis of bluetongue virus in *Culicoides*: interpreting laboratory data in a field context. *Vet Ital*, **40**(3), 160-166.
- MURPHY FA, GIBBS EPJ, HORZINEK MC, STUDDERT MJ (1999). *Veterinary virology*, 3th Edition, *Raven pres Ltd*. New York USA.
- MURRAY MD (1987). Akabane epizootics in New South Wales: evidence for long-distance dispersal of the biting midge *Culicoides brevitarsis*. *Aust Vet J*, **64**: 305–308.
- MUSHI EZ, HILL FWG, DAWEB P, RIESS R (1990). Antibodies to bluetongue and African horse sickness viruses in the sera of elephants in Zimbabwe. *Bulletin of Animal Health and Production in Africa* **38**, 475.
- NASLUND K, BLOMQUIST G, VERNERSSON C, ZIENTARA S, BREARD E, VALARCHER, JF(2014). Development and evaluation of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for serological detection of Schmallenberg virus antibodies in ruminants using whole virus antigen. *Acta veterinaria scandinavica*, **56**(1), 71.
- NIKOLAKAKI SV, NOMIKOU K, KOUMBATI M, MANGANA O, PAPANASTASSOPOULOU M, MERTENS PP, PAPADOPOULOS O (2005). Molecular analysis of the NS3/NS3A gene of Bluetongue virus isolates from the 1979 and 1998–2001 epizootics in Greece and their segregation into two distinct groups. *Virus research*, **114**(1), 6-14.
- OBIJESKI JF, BISHOP DH, MURPHY FA, PALMER EL (1976). Structural proteins of La Crosse virus. *J. Virol.* **19**, 985–997.
- OEM JK, YOON HJ, KIM HR, ROH IS, LEE KH, LEE OS, BAE YC (2012a). Genetic and pathogenic characterization of Akabane viruses isolated from cattle with encephalomyelitis in Korea. *Veterinary microbiology*, **158**(3), 259-266.
- OEM JK, LEE KH, KIM HR, BAE YC, CHUNG JY, LEE OS, ROH IS (2012b). Bovine epizootic encephalomyelitis caused by Akabane virus infection in Korea. *Journal of comparative pathology*, **147**(2), 101-105.
- OEM JK, KIM YH, KIM SH, LEE MH, LEE KK (2014). Serological characteristics of affected cattle during an outbreak of bovine enzootic encephalomyelitis caused by Akabane virus. *Tropical animal health and production*, **46**(1), 261-263.
- OGAWA Y, FUKUTOMI T, SUGIURA K, KATO K, TOHYA Y, AKASHI H (2007). Comparison of Akabane virus isolated from sentinel cattle in Japan. *Veterinary microbiology*, **124**(1), 16-24.
- OGG MM, PATTERSON JL (2007). RNA binding domain of Jamestown Canyon virus S segment RNAs. *J. Virol.* **81**, 13754–13760.

- OGUZOGLU TC, TOPLU N, KOC BT, DOGAN F, EPIKMEN ET, IPEK E, AKKOC AN (2015). First molecular detection and characterization of Akabane virus in small ruminants in Turkey. *Archives of virology*, **160(10)**, 2623-2627.
- OIE (2000). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial animals. Paris. 3rd Ed.
- OIE (2009). Terrestrial Manual. Chapter 2.1.3. Bluetongue.
- OIE (2014). Terrestrial Manual. Chapter 2.1.3. Bluetongue
- OIE, (2017). Weekly disease information, Vol **30**, No 52, December 2017
- OLUWAYELU DO, AIKI-RAJI CO, UMEH EC, MUSTAPHA SO, ADEBIYI AI (2016). Serological investigation of Akabane virus infection in cattle and sheep in Nigeria. *Advances in virology*, 2016. Volume **2016** 2936082, 4 pages
- OSBORNE JC, ELLIOTT RM. (2000). RNA binding properties of bunyamwera virus nucleocapsid protein and selective binding to an element in the 5' terminus of the negative-sense S segment. *J. Virol.* **74**, 9946–9952.
- OSBURN BI (1992). Immune responses to orbivirus. In: *Bluetongue, African Horse Sickness and related Orbivirus*. Ed.: T.E. Walton, BI Osburn, Crs.Press Inc, Fla., 511-524.
- OYA A, OKUNO T, OGATA T, KOBAYASHI I, MATSUYAMA T (1961). Akabane, a new arbor virus isolated in Japan. *Japanese Journal of Medical Science and Biology*, 14(3), 101-108.
- OZGUNLUK I (2003). Güneydoğu Anadolu projesi (GAP) kapsamındaki bölgede sığırlarda Mavidil, Akabane ve İbaraki virus enfeksiyonlarının Seroepidemiolojisi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Ankara.
- OZGUNLUK I, YILDIRIM Y, GUR S, TAN MT (2013). Aydın Yöresindeki Sığırlarda Akabane Virus (AKAV) ve İbaraki Virus (IBAV) Enfeksiyonlarının Seroprevalansı. *Harran Üniv vet fak der*, **2(1)** 36-41
- OZKUL A, ERTURK A, CALISKAN E, SARAC F, CEYLAN C, MERTENS P, KABAKLI O, DINCER E, CIZMECI SG (2009). Segment 10 based molecular epidemiology of bluetongue virus (BTV) isolates from Turkey: 1999–2001. *Virus research*, **142(1)**, 134-139.
- PARSONSON IM (1990): Pathology and pathogenesis of bluetongue infections. *Current Topics of Microbiology and Immunology* **162**, 119–141.
- PARSONSON IM (1992). Overview of bluetongue virus infection of sheep. In *Bluetongue, African Horsesickness, and Related Orbiviruses*, Ed.: TE Walton, BI Osburn, Crs Inc., Fla., P: 713-724.
- PATHAK KB, BISWAS SK, TEMBHURNE PA, HOSAMANI M, BHANUPRAKASH V, PRASAD G, SINGH RK, RASOOL TJ, MONDAL B (2008). Prokaryotic expression of truncated VP7 of Bluetongue virus (BTV) and reactivity of the purified recombinant protein with all BTV type-specific sera. *J. Virol.Method.* **152**: 6-12.

- PAWAIYA RVS, GUPTA VK (2013). A review on Schmallenberg virus infection: a newly emerging disease of cattle, sheep and goats. *Veterinarni Medicina*, **58 (10)**: 516–526.
- PAWESKA JT, VENTER GJ, MELLOR PS (2002). Vector competence of South African culicoides species for bluetongue virus serotype 1 (BTV-1) with special reference to the effect of temperature on the rate of virus replication in *C. Imicola* and *C. Bolitinos*. *Medical and veterinary entomology*, **16(1)**, 10-21.
- PEPERKAMP NH, LUTTIKHOLT SJ, DIJKMAN R, VOS JH, JUNKER K, GREIJDANUS S, LIEVAART K (2015). Ovine and bovine congenital abnormalities associated with intrauterine infection with Schmallenberg virus. *Veterinary pathology*, **52(6)**, 1057-1066.
- PERRIN A, ALBINA E, BREARD E, SAILLEAU C, PROME S, GRILLET C, KWIA TEK O, RUSSO P, THIERY R, ZIENTARA S, CETRE-SOSSAH C (2007). Recombinant capripoxviruses expressing proteins of bluetongue virus: evaluation of immune responses and protection in small ruminants. *Vaccine* **25**: 6774-6783.
- PESTIL Z (2014). Marmara bölgesinde koyunlardan alınan abort ve postnatal örneklerde viral etkenlerin (Pestivirus, Mavidil ve Akabane Virus) araştırılması. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Elazığ.
- PETTERSSON E, BENSCH S, ANDER M, CHIRICO J, SIGVALD R, IGNE LL R (2013). Molecular identification of bloodmeals and species composition in *Culicoides* biting midges. *Medical and veterinary entomology*, **27(1)**, 104-112.
- POSKIN A, CAY B, COMTET L, REGGE N, VERITE S, STEDE Y (2015). Persistence of the protective immunity and kinetics of the isotype specific antibody response against the viral nucleocapsid protein after experimental Schmallenberg virus infection of sheep. *Veterinary research*, **46(1)**, 119.
- PROBST C, GETHMANN JM, KAMPEN H, WERNER D, CONRATHS FJ (2015). A comparison of four light traps for collecting *Culicoides* biting midges. *Parasitology research*, **114(12)**, 4717-4724.
- PROMED-MAIL (2009). Bluetongue-Europe (04): Detection of BTV-11 RNA in Belgium: Laboratory ReportArchive No. 20090211.0622. Available at <http://www.promedmail.org> (accessed August 5, 2009)
- PURSE BV, MELLOR PS, ROGERS DJ, SAMUEL AR, MERTENS PP, BAYLIS M (2005). Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. *Nature Reviews Microbiology*, **3(2)**, 171-181.
- PURSE BV, BROWN HE, HARRUP L, MERTENS PP, ROGERS DJ (2008). Invasion of bluetongue and other orbivirus infections into Europe: the role of biological and climatic processes. *Rev Sci Tech*, **27**, 427-42.
- RASMUSSEN LD, KRISTENSEN B, KIRKEBY C, RASMUSSEN TB, BELSHAM GJ, BODKER R, BOTNER A (2012). Culicoids as vectors of Schmallenberg virus. *Emerging infectious diseases*, **18(7)**, 1204.

- RATINIER M, CAPORALE M, GOLDBERGER M, FRANZONI G, ALLAN K, NUNES SF, PALMARINI M.(2011). Identification and characterization of a novel non-structural protein of bluetongue virus. *PLoS pathogens*, **7(12)**, e1002477.
- REGGE ND, DEBLAUWE I, DEKEN RD, VANTIEGHEM P, MADDER M, GEYSEN D, CAY AB (2012). Detection of Schmallenberg virus in different Culicoides spp. by real-time RT-PCR. *Transboundary and emerging diseases*, **59(6)**, 471-475.
- RODRIGUEZ-PRIETO V, KUKIELKA D, MOURINO M, PARADELL H, PLAJA L, URNIZA A, SÁNCHEZ-VIZCAINO JM (2016). Natural immunity of sheep and lambs against the Schmallenberg virus infection. *Transboundary and emerging diseases*, **63(2)**. e220–e228. doi:10.1111/tbed.12256.
- RODRIGUEZ-SANCHEZ B, IGLESIAS-MARTIN I, MARTINEZ-AVILES M, SANCHEZ-VIZCAINO JM (2008). Orbiviruses in the Mediterranean Basin: updated epidemiological situation of bluetongue and new methods for the detection of BTV serotype 4. *Transboundary and Emerging Diseases* **55**, 205–214.
- ROGAN D, BABIUK LA (2005). Novel vaccines from biotechnology. *Revue Scientifique Et Technique-Office International Des Epizooties*, **24(1)**, 159.
- ROSSI S, PIOZ M, BREARDE, DURAND B, GIBERT P, GAUTHIER D, KLEIN F, MAILLARD D, SAINT-ANDRIEUX C, SAUBUSSE T, HARS J (2013). Bluetongue dynamics in French wildlife: exploring the driving forces. *Transbound. Emerg. Dis.* **61**, 12–24.
- ROSSI S, VIAROUGE C, FAURE E, GILOT-FROMONT E, GACHE K, GIBERT P, GAUTHIER D (2017). Exposure of wildlife to the Schmallenberg virus in France (2011–2014): higher, faster, stronger (than Bluetongue)!. *Transboundary and emerging diseases*, **64(2)**, 354-363.
- SAILLEAU C, BOOGAERTS C, MEYRUEIX A, LALOY E, BREARD E, VIAROUGE C, ZIENTARA S (2013). Schmallenberg virus infection in dogs, France, 2012. *Emerging infectious diseases*, **19(11)**, 1896.
- SAILLEAU C, VIAROUGE C, BREARD E, PERRIN JB, DOCEUL V, VITOUR D, ZIENTARA S (2014): Emergence of Bluetongue Virus Serotype 1 in French Corsica Island in September 2013. *Transboundary and emerging diseases*, **62**: e89–e91.
- SAVINI G, MACLACHLAN NJ, SANCHEZ-VIZCAINO JM, ZIENTARA S (2008). Vaccines against bluetongue in Europe. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* **31**, 101–120.
- SAVINI G, HAMERS C, CONTE A, MIGLIACCIO P, BONFINI B, TEODORI L, DI VENTURA M, HUDELET P, SCHUMACHER C, CAPORALE V (2009). Assessment of efficacy of a bivalent BTV-2 and BTV-4 inactivated vaccine by vaccination and challenge in cattle. *Veterinary Microbiology* **133**, 1–8.
- SEEHUSEN F, HAHN K, HERDER V, WEIGAND M, HABIERSKI A, GERHAUSER I, BAUMGARTNER W (2014). Skeletal muscle hypoplasia represents the only significant lesion in peripheral organs of ruminants infected with Schmallenberg virus during gestation. *Journal of comparative pathology*, **151(2)**, 148-152.

- SEGARD A, GARDES L, JACQUIER E, GRILLET C, MATHIEU B, RAKOTOARIVONY I, GARROS C (2017). Schmallenberg virus in *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) populations in France during 2011-2012 outbreak. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2017;00:1–10.
- SELLERS RF (1992). Weather, *Culicoides*, and the distribution and spread of bluetongue and African horse sickness viruses. In *Bluetongue, African horse sickness, and related orbiviruses: Proceedings of the Second International Symposium* (pp. 284-290).
- SEVIK M. (2017a). Molecular and serological survey of Akabane virus infection in sheep in the Mediterranean Region of Turkey. *Small Ruminant Research*, **156**, 1-6.
- SEVIK M. (2017b). Molecular detection and genetic analysis of Akabane virus genogroup Ib in small ruminants in Turkey. *Archives of Virology*, **162** (9), 2769–2774
- SHAW AE, MONAGHAN P, ALPAR HO, ANTHONY S, DARPEL KE, BATTEN CA, ...& MERTENS PPC (2007). Development and initial evaluation of a real-time RT-PCR assay to detect bluetongue virus genome segment 1. *J Virol Methods*. **145**(2):115–26.
- SHIN YK, OEM JK, YOON S, HYUN BH, CHO IS, YOON SS, SONG JY (2009). Monitoring of five bovine arboviral diseases transmitted by arthropod vectors in Korea. *Journal of Bacteriology and Virology*, **39**(4), 353-362.
- SLAMA D, BABBA H, CHAKER E (2017). *Culicoides* spp.(Diptera: Ceratopogonidae) in Tunisia. In *Biological Control of Pest and Vector Insects*. InTech.
- SOHIER C, MICHIELS R, KAPPS E, VAN MAEL E, QUINET C, CAY AB, DE REGGE N (2017). Unchanged Schmallenberg virus seroprevalence in the Belgian sheep population after the vector season of 2014 and 2015 despite evidence of virus circulation. *Research in Veterinary Science*, **114**, 177-180.
- SPERLOVA A, ZENDULKOVA D (2011). Bluetongue: a review. *Vet Med-Czech*, **56**(9), 430-452.
- SPRYGIN AV, FIODOROVA OA, BABIN YY, ELATKIN NP, MATHIEU B, ENGLAND ME, KONONOV AV (2014). *Culicoides* biting midges (Diptera, Ceratopogonidae) in various climatic zones of Russia and adjacent lands. *Journal of Vector Ecology*, 39(2), 306-315.
- STRAM Y, BRENNER J, BRAVERMAN Y, BANET-NOACH C, KUZNETZOVA L, GINNI M. (2004). Akabane virus in Israel: a new virus lineage. *Virus research*, **104**(1), 93-97.
- TABACHNICK WJ (2010). Challenges in predicting climate and environmental effects on vector-borne disease epistemics in a changing world. *Journal of Experimental Biology*, **213**(6), 946-954.
- TALAVERA S, MUNOZ-MUNOZ F, VERDUN M, PUJOL N (2017). Revealing potential bridge vectors for BTV and SBV: a study on *Culicoides* blood feeding preferences in natural ecosystems in Spain. *Medical and Veterinary Entomology*. doi:10.1111/mve.12263
- TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, FILIPSKI A, KUMAR S (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution*, **30**(12), 2725-2729.

- TAN BH, NASON E, STAEUBER N, JIANG W, MONASTRYRSKAYA K, ROY P (2001). RGD tripeptide of bluetongue virus VP7 protein is responsible for core attachment to *Culicoides* cells. *J Virol*, **75**, 3937-3947.
- TANG HB, CHEN F, RAO G, BAI A, JIANG J, DU Y, WU J (2017). Characterization of Akabane virus from domestic bamboo rat, Southern China. *Veterinary Microbiology*, **207**, 280-285.
- TATEM AJ, BAYLIS M, MELLOR PS, PURSE BV, CAPELA R, PENA I, ROGERS DJ (2003). Prediction of bluetongue vector distribution in Europe and north Africa using satellite imagery. *Vet Microbiol*, **97**, 13-29.
- TAYLOR WP, MELLOR PS (1994). The distribution of Akabane virus in the Middle East. *Epidemiology and infection*, **113**(1), 175-185.
- TONBAK S, AZKUR AK, PESTIL Z, BIYIKLI E, ABAYLI H, BAYDAR E, BULUT H (2016). Circulation of Schmallenberg virus in Turkey, 2013. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **40**(2), 175-180.
- TOUSSAINT JF, SAILLEAU C, BREARD E, ZIENTARA S, DE CLERCQ K (2007). Bluetongue virus detection by two real-time RT-qPCRs targeting two different genomic segments. *J Virol Methods*, **140**(1-2):115-23.
- TSUDA T, YOSHIDA K, YANASE T, OHASHI S, YAMAKAWA M (2004). Competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of the antibodies specific to Akabane virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol.16, no.6, pp. 571-576.
- TSUTSUI T, YAMAMOTO T, HAYAMA Y, AKIBA Y, NISHIGUCHI A, KOBAYASHI S, YAMAKAWA M (2009). Duration of maternally derived antibodies against Akabane virus in calves: survival analysis. *Journal of Veterinary Medical Science*, **71**(7), 913-918.
- TWEEDLE N, MELLOR PS (2002). Technical review – blue-tongue: The virus, hosts and vectors. Version 1.5. Report to the Department of Health, Social Services and Public Safety U.K.(DEFRA), 25p. http://archive.defra.gov.uk/foodfarm/farmanimal/diseases/atoz/documents/bluetongue_technical.PDF (accessed July 28, 2011).
- UCHIDA K, MURAKAMI T, SUEYOSHI M, TSUDA T, INAI K, ACORDA JA, TATEYAMA S (2000). Detection of Akabane viral antigens in spontaneous lymphohistiocytic encephalomyelitis in cattle. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, **12**(6), 518-524.
- URMAN HK, MILLI U, MERT N, BERKIN S, KAHRAMAN MM, YUCE H, AVVURAN H (1979). Türkiye’de buzağlarda konjenital epizootik arthrogriposis ve hydranencephalie olayalar. *Ank Vet Fak Derg*, **26**: 287-292
- USLU U, DIK B (2004). Konya yöresinde *Culicoides* türlerinin (Diptera: Ceratopogonidae) mevsimsel dağılımları. *Vet Bil Derg*, **20**(4), 5-10.
- USLU U, DIK B (2010). Chemical characteristics of breeding sites of *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae). *Veterinary parasitology*, **169**(1), 178-184.
- VANBINST T, VANDENBUSSCHE F, DERNELLE E, DE CLERCQ K (2010). A duplex real-time RT-PCR for detection of bluetongue virus in bovine semen. *J. Virol. Method.* **169**: 162-168.

- VAN DER SLUJS MTW, DE SMIT AJ, MOORMANN RJ (2016). Vector independent transmission of the vector-borne bluetongue virus. *Critical reviews in microbiology*, **42(1)**, 57-64.
- VAN RIJN F, BULTE E, ADEKUNLE A (2012). Social capital and agricultural innovation in Sub-Saharan Africa. *Agricultural Systems*, **108**, 112-122.
- VARELA M, SCHNETTLER E, CAPORALE M, MURGIA C, BARRY G, & GLASS M (2013). Schmallenberg virus pathogenesis, tropism and interaction with the innate immune system of the host. *PloS Pathog.* **9**, e1003133.
- VELDHUIS AM B, VAN SCHAİK G, VELLEMA P, ELBERS ARW, BOUWSTRA R, VAN DER HEIJDEN HMJF, MARS MH (2013). Schmallenberg virus epidemic in the Netherlands: spatiotemporal introduction in 2011 and seroprevalence in ruminants. *Preventive veterinary medicine*, **112(1)**, 35-47.
- VENTER GJ, MELLOR PS, WRIGHT I, PAWESKA JT (2007). Replication of live-attenuated vaccine strains of bluetongue virus in orally infected South African *Culicoides* species. *Medical and veterinary entomology*, **21(3)**, 239-247.
- VERWOERD DW (2012). History of orbivirus research in South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association*, **83(1)**, 01-06.
- VIENNET E, GARROS C, GARDES L, RAKOTOARIVONY I, ALLENE X, LANCELOT R, CROCHET D, MOULIA C, BALDET T, BALENGHIEN T (2013). Host preference of Palaearctic *Culicoides* biting midges: implications for transmission of orbiviruses. *Med Vet Entomol*, **27**: 255-266.
- WALDVOGEL AS, ANDERSON GA, PHILLIPS DL, OSBURN BI (1992). Association of virulent and avirulent strains of bluetongue virus serotype 11 with premature births of late-term bovine fetuses. *Journal of Comparative Pathology* **106**, 333-340
- WALKER AR (1977). Seasonal fluctuations of *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) in Kenya. *Bull ent Res*, **67**: 217-233.
- WANG J, BLASDELL KR, YIN H, WALKER PJ (2017). A large-scale serological survey of Akabane virus infection in cattle, yak, sheep and goats in China. *Veterinary Microbiology*. **207**: 7-12
- WEBB D, QUAY OE (2008). The economic and social impact of the Institute for Animal Health's work on Bluetongue disease (BTV-8). *Accesso em*, **4(03)**, 2015.
- WECHSLER SJ, MCHOLLAND LE (1988). Susceptibilities of 14 cell lines to bluetongue virus infection. *Journal of Clinical Microbiology*. **26(11)**: 2324-2327
- WECHSLER SJ, MCHOLLAND LE, TABACHNICK WJ (1989). Cell lines from *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae) support replication of bluetongue virus. *J. Invertebr. Pathol.* **54**: 385-393.
- WENSMAN JJ, BLOMQUIST G, HJORT M, HOLST BS (2013). Presence of antibodies to Schmallenberg virus in a dog in Sweden. *J. Clin. Microbiol.* **51**, 2802-2803.

- WERNIKE K, BREITHAUPT A, KELLER M, HOFFMANN B, BEER M, ESCHBAUMER M (2012). Schmallenberg virus infection of adult type I interferon receptor knock-out mice. *PLoS ONE* **7**, Schmallenberg virus infection of adult type I interferon receptor knock-out mice.
- WERNIKE K, SILAGHI C, NIEDER M, PFEFFER M, BEER M (2013). Dynamics of Schmallenberg virus infection within a cattle herd in Germany, 2011. *Epidemiol. Infect.*, **2**: 1–4.
- WERNIKE K, CONRATHS F, ZANELLA G, GRANZOW H, GACHE K, SCHIRRMEIER H, VALAS S, STAUBACH C, MARIANNEAU P, KRAATZ F, BONTGEN HD, REIMANN I, ZIENTARA S, BEER M (2014). Schmallenberg virus-two years of experiences. *Prev Vet Med.* **116**: 423–34.
- WERNIKE K, HOFFMANN B, CONRATHS FJ, BEER M (2015). Schmallenberg virus recurrence, Germany, 2014. *Emerging infectious diseases*, **21(7)**, 1202.
- WERNIKE K, BEER M, HOFFMANN B (2017). Schmallenberg virus infection diagnosis: results of a German proficiency trial. *Transboundary and Emerging Diseases*, **4**: 1405–1410.
- WILSON A, DARPEL K, MELLOR PS (2008). Where does bluetongue virus sleep in the winter?. *PLoS biology*, **6(8)**, e210.
- WILSON AJ, MELLOR PS (2009). Bluetongue in Europe: past, present and future. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* **364**: 2669–2681.
- WRIGHT IM (2014). Serological and genetic characterisation of putative new serotypes of bluetongue virus and epizootic haemorrhagic disease virus isolated from an Alpaca (2014). Doktora Tezi, North-West Üniversitesi, Güney Afrika.
- YANASE T, KATO T, MKUBO T, YOSHIDA K, OHASHI S, YAMAKAWA M, MIURA Y, TSUDA T (2005). Isolation of bovine arboviruses from *Culicoides* biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) in southern Japan: 1985–2002. *J. Med. Entomol.*, **42**, 63–67.
- YANASE T, AIZAWA M, KATO T, YAMAKAWA M, SHIRAFUJI H, TSUDA T (2010). Genetic characterization of Aino and Peaton virus field isolates reveals a genetic reassortment between these viruses in nature. *Virus research*, **153(1)**, 1-7.
- YANASE T, KATO T, AIZAWA M, SHUTO Y, SHIRAFUJI H, YAMAKAWA M, TSUDA T (2012). Genetic reassortment between Sathuperi and Shamonda viruses of the genus Orthobunyavirus in nature: implications for their genetic relationship to Schmallenberg virus. *Archives of virology*, **157(8)**, 1611-1616.
- YANG DK, KIM BH, KWEON CH, NAH JJ, KIM HJ, LEE KW, MUN KW(2008). Serosurveillance for Japanese encephalitis, Akabane, and Aino viruses for Thoroughbred horses in Korea. *Journal of veterinary science*, **9(4)**, 381-385.
- YANG DK, NAH JJ, SEOK KO, KIM JJ (2012). Evaluation of Akabane vaccine strains based on molecular characterization. *Journal of the Preventive Veterinary Medicine Vol.*, **36(4)**, 180-185.
- YAVRU S, DIK B, BULUT O, USLU U, YAPICI O, KALE M, AVCI O (2009). İç ve İç Batı Anadolu'da koyunlarda Mavi Dil Virus (MDV) Enfeksiyonu'nun Serolojik ve Virolojik Olarak Araştırılması ve Vektör *Culicoides* Türlerinin Belirlenmesi (Tübitak proje No: 106 O 456)

- YILDIRIM Y(2003). Kuzeydoğu Anadolu bölgesindeki sığırlarda mavidil (BT), IBR, PI-3, EBL ve BVD enfeksiyonlarının seroprevalansı. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Ankara.
- YILDIRIM Y, YILMAZ V (2010). Seroprevalence of bluetongue virus 4, 9 and 16 serotypes in cattle in various North-eastern provinces of Turkey. *Revue de Medecine Veterinaire*, **161(8)**, 372.
- YILDIRIM Y, GOKCE G, KIRMIZIGUL AH, ERKILIC EE, YILMAZ V, TAN MT, OZGUNLUK I (2015). Molecular and Serological Investigation of Akabane Virus Infection in Cattle in Kars-Turkey. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, **70(3)**: 52-57.
- YILMAZ H (1994). Elazığ yöresinde bulunan Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) türleri üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, Fırat Üniv Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- YILMAZ V, YILDIRIM Y, OTLU S (2012). The Seroprevalance of Bluetongue Virus Infection in Cattle in the Kars District of Turkey. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, *67*, 4.
- YILMAZ H, HOFFMANN B, TURAN N, CIZMECIGIL UY, RICHT JA, VAN DER POEL WH (2014). Detection and partial sequencing of Schmallenberg virus in cattle and sheep in Turkey. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, **14(3)**, 223-225.
- YONGUC AD, TAYLOR WA (1982). Bluetongue in western Turkey. *Vet.Rec*, **111**: 144-146.
- ZHAI SL, LV DH, WEN XH, ZHU XL, YANG YQ, CHEN QL, WEI WK (2017). Preliminary serological evidence for Schmallenberg virus infection in China. *Tropical Animal Health and Production*, doi.org/10.1007/s11250-017-1433-2

EKLER



Ek-1. Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'ndan alınan etik kurul kararı.


**T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ**
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 25/02/2015
TOPLANTI NO : 2015-3
DOSYA NO : 2015-26
KARAR NO : 2015-3-51

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Seval Bilge Dağalp'ın yaptığı ve araştırmacı olarak Araş.Gör.Fırat Doğan'ın katıldığı "Hatay İlinde Ruminantlarda Bazı Arboviral (Akabane Virus, Mavdilil Virus, Schmallenberg Virus) Enfeksiyonların Epidemiyolojisinin Araştırılması ve Olası Vektörlerinin Belirlenmesi" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzca incelenmiştir. Söz konusu çalışma, 15 Şubat 2014 tarihli Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmeliğin 8 inci maddesinin sekizinci fıkrasının (k) bendi kapsamında ele alınmış olup, çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu iznine tabi değildir.

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Ünvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof.Dr.Oğuz SARİMEHMETOĞLU (Başkan)	Parazitoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Prof.Dr.Eyüp Sabri AKARSU (Başkan Vekili)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	E	
Prof.Dr.Tanju ÖZÇELİKAY (Üye)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E	
Prof.Dr.Nuri YİĞİT (Üye)	Zooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof.Dr.Fatih CEDDEN (Üye)	Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	E	
Prof.Dr.Aydın YAĞMURLU (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	E	
Prof.Dr.Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünler Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	K	
Yrd.Doç.Dr.Mehmet SAĞLAM (Üye)	Cerrahi Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	

Yrd.Doç.Dr.Atilla ÖZGÖR (Üye)	Veteriner Helâmligi Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Uzm.Vet.Hek.Atilla İŞGÖREN (Üye)	Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı	Tıp Fakültesi	E	
Vet.Hek.Dr.Akife KAYA (Üye)	Referans Veteriner Kliniği	Serbest	K	
Uzm.Vet.Hek.Hüseyin DEDE (Üye)	Veteriner Hekim/ler Derneği	Serbest	E	

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Fırat

Soyadı: DOĞAN

Doğum yeri ve tarihi: Altınözü 05.09.1986

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Evli

Askerlik Durumu: Muaf (Bedelli)

İletişim adresi ve telefonu: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji

Anabilim Dalı, 0312 3170315/ Cep: 0531 882 75 77

II- Eğitimi

2005-2010: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Lisans/Yükseklisans Eğitimi, Erzurum)

2001-2004: Altınözü Çok Programlı Lisesi Altınözü/ HATAY

1998-2001: Cumhuriyet İlköğretim Okulu ve Kozkalesi İlköğretim Okulu Altınözü /HATAY

1993-1998: Kozkalesi İlköğretim Okulu Altınözü/ HATAY

Yabancı dili: İngilizce

III- Ünvanları

2010: Veteriner Hekim

IV- Mesleki Deneyimi

2010- 2011 Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deontoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

2011-2012 Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

2012- 2017: Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Veteriner Viroloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Veteriner Mikrobiyoloji Derneği

VI- Bilimsel İlgili Alanları

Yayımları

BILGE DAGALP S, BABA OGLU AR, ATASEVEN VS, KARAPINAR Z, TIMURKAN MO, DOĞAN F, OZKUL A, ALKAN F (2018). Determination of presence of equid alpha and gamma herpesvirus infections in foals with respiratory distress. *Ankara Univ Vet Fak Derg.*, **65(1)**, 63-68.

DOĞAN F, BILGE DAGALP SB (2017). Sığırlarda Viral Nedenli Abort Olgularının Etiyopatogenezi. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **5(1)**, 66-77.

BILGE DAGALP S, DOĞAN F, FARZANI TA, SALAR S, BASTAN A (2017). The genetic diversity of bovine papillomaviruses (BPV) from different papillomatosis cases in dairy cows in Turkey. *Archives of Virology*, **162(6)**, 1507-1518.

DOĞAN F, BILGE DAGALP S, ATASEVEN VS, FARZANI TA (2016). The Molecular Detection of Lumpy Skin Disease Virus from Infected Cattle in Turkey. *Journal of Applied Biological Sciences*, **10 (2)**.

OGUZ OGLU TC, TOPLU N, KOC BT, DOĞAN F, EPIK MEN ET, IPEK E, AKKOC AN. (2015). First molecular detection and characterization of Akabane virus in small ruminants in Turkey. *Archives of virology*, **160(10)**, 2623-2627.

AKALIN PP, ATASEVEN VS, DOĞAN F, ERGUN Y, BASPINAR N, OZCAN O (2015). Selected biochemical and oxidative stress parameters and ceruloplasmin as acute phase protein associated with bovine leukaemia virus infection in dairy cows. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, **59(3)**, 327-330.

ATASEVEN VS, DOĞAN F, BILGE DAGALP S, TAN MT, ALTINBAY K, ATES CT (2014). Serological survey of equid herpesvirus 3 infection in Turkish horses. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **38(3)**, 295-298.

Bildiriler

DOĞAN F, DORTTAS SD, BİLGE DAGALP S, ATASEVEN VS, ALKAN F (2017). Teat papillomatosis case in a Damascus goat (Shami goat) in Hatay province, Turkey: A new putative papillomavirus? Prizren/ Kosova, (Sözlü Bildiri)

OGUZ OGLU TC; KOC BT, DOĞAN F (2017) Retrospective Molecular Study of Bovine Leukemia virus (BLV) in Turkey. 8th Balkan Animal Science Conference (BALNIMALCON 2017) Prizren, Kosova, (Sözlü Bildiri).

BILGE DAGALP S, FARZANI TA, DOĞAN F, DORTTAS SD, ALKAN F, OZKUL A (2017). The molecular and antigenic characterization of Turkish Bovine Herpesvirustype1

(BoHV-1) isolates. 5th Veterinary Herpesvirus Symposium of the European Society For Veterinary Virology (ESVV 2017), Ghent, Belçika, (Poster Bildiri)

AKKUTAY-YOLDAR Z, OGUZOGLU TC, DOGAN F, ATASEVEN VS (2017). Investigation And Identification Of Papillomavirus Infection In Various Cell Lines. 3rd International Conference on Engineering and Natural Science (ICENS 2017), Budapeşte, Macaristan (Sözlü Bildiri)

DOGAN F, BILGE DAGALP S, ATASEVEN VS, FARZANI TA (2016). The Molecular Detection of Lumpy Skin Disease Virus from infected cattle in Turkey. 2. International Congress on Applied Biological Sciences, Saraybosna, Bosna-Hersek (Poster Bildiri)

BILGE DAGALP S, DOGAN F, FARZANI TA, SALAR S, BASTAN A (2016). The genetic diversity of bovine papillomaviruses BPV from different papillomatosis cases in Turkish cattle. 6th European Congress of Virology, Hamburg, Almanya (Poster Bildiri)

ALKAN F, BILGE DAGALP S, DOGAN F, COSKUN N (2016). The Molecular Characterization of Akabane virus from Severe Outbreak in 2015 Turkey. 6th European Congress of Virology, Hamburg, Almanya (Poster Bildiri)

AKALIN PP, ATASEVEN VS, DOGAN F, ERGÜN Y, BASPINAR N, OZCAN O (2016). Selected Biochemical and Oxidative Stress Parameters and Ceruloplasmin as Acute Phase Protein Associated with Bovine Leukaemia Virus Infection in Dairy Cows. International conference on Engineering and Natural Sciences, Saraybosna, Bosna-Hersek (Sözlü Bildiri)

YILMAZ V, COSKUN N, DOGAN F, YILDIRIM Y, BILGE DAGALP S, OGUZOGLU TC, SAHİN M (2015). Investigation of Some Viral Agents in Aborted Ruminant Fetuses. International Congress on Applied Biological Sciences, Üsküp, Makedonya (Poster Bildiri)

SAHAL M, DUZLU S, KESKIN N, AYDEMİR E, KOC BT, DOGAN F, GUL SANCAK I, ORKUN O (2015). Okuler Semptomlu Bir Kedide Viral Ajanların FeCOV ve FeHV 1 Varlığı. 11. Veteriner İç Hastalıkları Kongresi, Samsun, Türkiye (Poster Bildiri)

BILGE DAGALP S, FARAJI A, ATASEVEN VS, KARAPINAR Z, TIMURKAN MO, DOGAN F, OZKUL A, ALKAN F (2014). Prevalance of equine herpesvirus infections in foals with respiratory tract disease in a private pension farm Turkey. International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance (IMED) 2014 Congress Viyana, Avusturya (Poster Bildiri)

BILGE DAGALP S, FARAJI A, OGUZOGLU TC, DOGAN F, CABALAR M, ALKAN F (2013). Molecular detection of Feline herpesvirus type 1 FHV 1 in cats with respiratory tract disease in Turkey. 4.ESVV Herpesvirus Sempozyumu, Zürih, İsviçre (Poster Bildiri)

BILGE DAGALP S, FARAJI A, DOGAN F, TIMURKAN MO, OGUZOGLU TC, OZKUL AL, ALKAN F (2013). Genomic analysis of Bovine herpesvirus type 4 BoHV 4 from Turkey. 4.ESVV Herpesvirus Sempozyumu) Zürih, İsviçre (Poster Bildiri)

ATASEVEN VS, DOGAN F, BILGE DAGALP S, TAN MT, ALTINBAY K, ATES CT (2013). Equid herpesvirus 3 EHV 3 antibodies in working horses Turkey. 13. World Equine Veterinary Association (WEVA) Congress Budapeşte, Macaristan (Poster Bildiri)

BILGE DAGALP S, DOGAN F, ATASEVEN VS (2012). Abort yapan keçilerde Caprine herpesvirus 1 CpHV 1 in moleküler tanısı. X. Ulusal Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Kongresi, Aydın (Kuşadası), Türkiye (Poster Bildiri)

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Serological diagnosis of relevant zoonotic arboviruses, Animal Health and Research Center (INIA-CISA), Valdeolmos, Madrid- İspanya (04-09 Nisan 2016).

Uygulamalı Bilimsel Araştırma Projesi Hazırlama Eğitimi-2 (UBAPHE-2), TÜBİTAK 2237 programı, Şanlıurfa-Türkiye (05-07 Nisan 2014).

DNA, RNA ve Protein Tabanlı Moleküler Yöntemler Uygulamalı Eğitim Kursu, Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, Türkiye (30 Ocak- 01 Şubat 2012).

Ödüller

2009-2010 Veteriner Fakültesi Mezunları Okul Birinciliği Ödülü (2010 yılı)

Projeler

Aşılama stratejilerinde bir gen aktarım vektörü olarak yerel BoHV-4 izolatu kullanımı: BoHV-1 glikoprotein D ifade eden BoHV-4 (BoHV-4/BoHV-1 gD) elde edilmesi, Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, No:17B0239004 2017-Devam Ediyor (Yardımcı Araştırmacı)

Doğu Akdeniz Bölgesinde Hatay Osmaniye ve Kahramanmaraş'ta ruminantlarda bazı arboviral (Akabane virus Mavidil virus ve Schmallerberg virus) enfeksiyonların epidemiyolojisinin araştırılması ve olası vektörlerinin belirlenmesi, Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, No:15B0239007 2015-Devam Ediyor (Yardımcı Araştırmacı)

Türkiye'de safkan damızlık kısrak ve aygırlarda equid herpesvirus tip 3 (EHV-3) enfeksiyonunun prevalansının araştırılması, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, No:11663, 2015-2017 (Yardımcı Araştırmacı)

VII- Diğer

Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası (2014).